

**ZUM NACHWEIS VON CHLAMYDIA TRACHOMATIS
IM MÄNNLICHEN UROGENITALTRAKT**

Gislint Hellein

1978



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41549025_0057

Aus dem Fachbereich Medizin des Landesuntersuchungsamtes
für das Gesundheitswesen Südbayern
Fachbereichsleiter: Prof.Dr. H. Metz

ZUM NACHWEIS VON CHLAMYDIA TRACHOMATIS
IM MÄNNLICHEN UROGENITALTRAKT

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Gislint Hellein
aus

München

1978

Mit Genehmigung des Fachbereichs Medizin
der Universität München

Berichterstatter : Prof.Dr. H. Metz

Mitberichterstatter : Prof.Dr. F. Deinhardt

Dekan : Prof.Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung : 31.7.1978



INHALT

		Seite
1	Einleitung	1
2	1. Kapitel	2
3	2. Kapitel	3
4	3. Kapitel	4
5	4. Kapitel	5
6	5. Kapitel	6
7	6. Kapitel	7
8	7. Kapitel	8
9	8. Kapitel	9
10	9. Kapitel	10
11	10. Kapitel	11
12	11. Kapitel	12
13	12. Kapitel	13
14	13. Kapitel	14
15	14. Kapitel	15
16	15. Kapitel	16
17	16. Kapitel	17
18	17. Kapitel	18
19	18. Kapitel	19
20	19. Kapitel	20
21	20. Kapitel	21
22	21. Kapitel	22
23	22. Kapitel	23
24	23. Kapitel	24
25	24. Kapitel	25
26	25. Kapitel	26
27	26. Kapitel	27
28	27. Kapitel	28
29	28. Kapitel	29
30	29. Kapitel	30
31	30. Kapitel	31
32	31. Kapitel	32
33	32. Kapitel	33
34	33. Kapitel	34
35	34. Kapitel	35
36	35. Kapitel	36
37	36. Kapitel	37
38	37. Kapitel	38
39	38. Kapitel	39
40	39. Kapitel	40
41	40. Kapitel	41
42	41. Kapitel	42
43	42. Kapitel	43
44	43. Kapitel	44
45	44. Kapitel	45
46	45. Kapitel	46
47	46. Kapitel	47
48	47. Kapitel	48
49	48. Kapitel	49
50	49. Kapitel	50
51	50. Kapitel	51
52	51. Kapitel	52
53	52. Kapitel	53
54	53. Kapitel	54
55	54. Kapitel	55
56	55. Kapitel	56
57	56. Kapitel	57
58	57. Kapitel	58
59	58. Kapitel	59
60	59. Kapitel	60
61	60. Kapitel	61
62	61. Kapitel	62
63	62. Kapitel	63
64	63. Kapitel	64
65	64. Kapitel	65
66	65. Kapitel	66
67	66. Kapitel	67
68	67. Kapitel	68
69	68. Kapitel	69
70	69. Kapitel	70
71	70. Kapitel	71
72	71. Kapitel	72
73	72. Kapitel	73
74	73. Kapitel	74
75	74. Kapitel	75
76	75. Kapitel	76
77	76. Kapitel	77
78	77. Kapitel	78
79	78. Kapitel	79
80	79. Kapitel	80
81	80. Kapitel	81
82	81. Kapitel	82
83	82. Kapitel	83
84	83. Kapitel	84
85	84. Kapitel	85
86	85. Kapitel	86
87	86. Kapitel	87
88	87. Kapitel	88
89	88. Kapitel	89
90	89. Kapitel	90
91	90. Kapitel	91
92	91. Kapitel	92
93	92. Kapitel	93
94	93. Kapitel	94
95	94. Kapitel	95
96	95. Kapitel	96
97	96. Kapitel	97
98	97. Kapitel	98
99	98. Kapitel	99
100	99. Kapitel	100

Meiner Mutter gewidmet.

Inhaltsverzeichnis

	Seite
I. <u>Verzeichnis der Abkürzungen</u>	1
II. <u>Einleitung</u>	2
III. <u>Schrifttum</u>	3
1. Klassifizierung der Chlamydien	3
2. Zur Geschichte der Chlamydien	4
3. Chlamydia trachomatis als Krankheits- erreger im Urogenitaltrakt	4
4. Morphologischer Aufbau der Chlamydien	5
5. Vermehrungszyklus der Chlamydien	6
6. Färberisches Verhalten der Chlamydien	9
7. Stoffwechsel der Chlamydien	12
8. Verhalten gegenüber Chemotherapeutika	12
9. Beziehung zu Bakterien und Viren	14
10. Physikalisches und chem. Verhalten	14
11. Kulturelle Züchtung der Chlamydien	16
12. Verhalten der Chlamydien im Tierversuch	18
13. Immunologisches Verhalten der Chlamydien	19
14. Toxische Wirkung der Chlamydien	20
15. Mikroimmunfluoreszenztest zur Typen- differenzierung	21
16. Krankheitsbild, Diagnose und Therapie bei genitaler Infektion mit Chlamydia trachom.	21
IV. <u>Eigene Untersuchungen</u>	23
1. Material und Methoden	23
1.1. Zellkulturen und Nährmedien	23
1.2. Technik der Chlamydien-Isolierung	24
1.2.1. Vorbereitung der Zellkulturen	24

	Seite
1.2.2. Verarbeitung der Zellkulturen	25
1.2.3. Anlegen der Deckglaskulturen	27
1.2.4. Beimpfung der Deckglaskulturen	27
1.2.5. Zentrifugation der Deckglas- kulturen	28
1.2.6. Färbung der Deckglaskulturen	28
1.2.7. Mikroskopische Beurteilung der gefärbten Deckglaskulturen	30
1.3. Untersuchungsmaterial	30
1.3.1. Probenentnahme	30
1.3.2. Transportgefäße und -Medium	32
1.3.3. Lagerung der Untersuchungsproben	32
2. Versuche	33
2.1. Herkunft des Untersuchungsmaterials	33
2.2. Gang der Untersuchung	33
2.2.1. Allgemein	33
2.2.2. Beim Patientenkollektiv aus der Dermatologischen Klinik	33
2.2.3. Beim Patientenkollektiv aus der Urologischen Klinik	34
3. Ergebnisse	36
3.1. Ergebnisse der Untersuchungen aus der Dermatologischen Klinik	36
3.1.1. Allgemeiner Überblick	36
3.1.2. Spezielle Ergebnisse	36
3.1.2.1. Beziehung zum Erkrankungsalter	36
3.1.2.2. Beziehung zwischen Fluormenge und pos. Chlamydien-Isolierung	37
3.1.2.3. Beziehung zwischen Fluordauer und pos. Chlamydien-Isolierung	38
3.1.2.4. Beziehung zur sonstigen kli- nischen Symptomatik	39

	Seite
3.1.2.5. Beziehung zwischen Leukozyten- zahl und Chlamydien-isolierung	40
3.1.2.6. Beziehung zwischen früherer Er- krankung im Urogenitaltrakt und pos. Chlamydien-Isolierung	41
3.2. Ergebnisse der Untersuchungen aus der Urologischen Klinik	42
3.2.1. Allgemeiner Überblick	42
3.2.2. Spezielle Ergebnisse	43
3.2.2.1. Beziehung zum Erkrankungsalter	43
3.2.2.2. Beziehung zum Vorhandensein oder Fehlen eines Fluors	44
3.2.2.3. Beziehung zur sonstigen kli- nischen Symptomatik	45
3.2.2.4. Beziehung zwischen Leukozyten- zahl und pos. klin. Symptomatik	46
3.2.2.5. Beziehung zwischen Leukozyten- zahl und Chlamydien-Isolierung	47
3.2.2.6. Beziehung zwischen früherer Er- krankung im Urogenitaltrakt und pos. Chlamydien-Isolierung	48
V. <u>Besprechung der Ergebnisse</u>	49
VI. <u>Zusammenfassung</u>	54
VII. <u>Literaturverzeichnis</u>	55

I. Verzeichnis der Abkürzungen

C.	: Chlamydien
C.tr.	: Chlamydia trachomatis
UGT	: Urogenitaltrakt
U.	: Urethritis
P.U.	: Prostato-Urethritis
MEM	: Minimum Essential Medium
FKS	: Foetales Kälberserum
STV	: Saline-Trypsin-Versene-Lösung

II. E i n l e i t u n g

In den letzten Jahren fanden sich in der angloamerikanischen Literatur in zunehmendem Maße Veröffentlichungen, die sich mit einer Beteiligung der Chlamydien (C.), insbesondere von Chlamydia trachomatis (C.tr.), bei abakteriellen, entzündlichen Erkrankungen im Bereich des Urogenitaltraktes (UGT) befaßten.(1,16,19,35,53,55,60,69)

Auf Grund der bisher vorliegenden Ergebnisse versuchten wir in einer einjährigen Studie in Zusammenarbeit mit der Urologischen und der Dermatologischen Klinik der Universität München die Rolle der C. bei den in ihrer Ätiologie noch ungeklärten Fällen von unspezifischer Urethritis (U.) bzw. Prostato-Urethritis (P.U.) abzuklären.

Auch nach Einbeziehung des Mykoplasmen-Nachweises in die Routinediagnostik war ein großer Teil dieser Erkrankungen ohne Befund geblieben.(61)

Hierfür war es notwendig aus den zahlreichen beschriebenen Untersuchungsmethoden diejenige herauszufinden, die mit den uns zur Verfügung stehenden Laboreinrichtungen ein optimales und zuverlässiges Ergebnis lieferte.

In all unseren Isolierungsversuchen arbeiteten wir mit γ -bestrahlten Zellkulturen. Die von uns angewandte Methodik entspricht im wesentlichen den von GORDON (24) und DAROUGAR (7) beschriebenen Nachweisverfahren.

III. S c h r i f t t u m

1. Klassifizierung der Chlamydien

Die Klassifizierung der C., zeitweise auch Bedsonien oder Miyagawanellen genannt (2,20), ist bis heute noch nicht entgültig abgeschlossen. Die C. wurden früher den Rickettsien zugeordnet (20,84), später reichte man sie vorübergehend auf Grund ihrer geringen Größe und ihres obligat intrazellulären Wachstums in die Gruppe der "Großen Viren" ein, in der sie mit zahlreichen, meist tierpathogenen Viren zusammengefaßt waren. (20,26,84)

Die humanpathogenen Mikroorganismen dieser Virusgruppe wurden auch unter der Bezeichnung PLT-Gruppe = Psittakose-Lymphogranuloma inguinale-Trachom-Gruppe geführt, wobei der Anfangsbuchstabe das durch den jeweiligen Erreger verursachte Krankheitsbild repräsentiert. (20)

Heute jedoch werden die C. einer Übergangsgruppe zwischen Rickettsien und Viren zugeordnet (73,74); in der Familie der Chlamydiaceae sind die C. im Genus Chlamydia mit den beiden Spezies

1. Chlamydia trachomatis und

2. Chlamydia psittaci

zu finden.

C.tr. umfaßt die primär humanpathogenen Erreger, nämlich das Trachom und die Einschlußkörperchen-Konjunktivitis, sowie die Erreger der Lymphogranuloma inguinale-Gruppe. Trachom und Einschluß-Konjunktivitis werden in der anglo-amerikanischen Literatur auch als TRIC-Agents = TRIC-Organismen bezeichnet. (20,26,39)

2. Zur Geschichte der Chlamydien

Das Trachom stellt die wichtigste durch C. verursachte Erkrankung dar. Dieses Krankheitsbild ist seit mehr als 3.500 Jahren bekannt und ist auch heute noch bei einem großen Teil der Erdbevölkerung, insbesondere in unterentwickelten Ländern, weit verbreitet. (39,48)

HALBERSTÄDTER und PROWAZEK (28) fanden 1907 erstmals intrazytoplasmatische Einschlüsse in den Epithelzellen der Konjunktiven von trachomkranken Indonesiern und bei experimentell mit Trachom infizierten Affen. Sie konnten auch zeigen, daß die Einslußkörperchen kleine, mit Giemsa-Lösung sich rötlich-blau färbende Partikel enthielten, die sie Elementarkörperchen nannten und als Erreger der Krankheit ansahen. MACCHIAVELLO (36) gelang es 1944 die Trachomerreger erstmals kulturell auf der Dottersackmembran eines Hühnerembryos zu züchten; sein Isolat war aber nur kurze Zeit lebensfähig.

TÂNG und Mitarbeiter (76) konnten dann 1957 durch Streptomycin-Zusatz bakterielle Verunreinigungen unterdrücken und so Trachomerreger im Dottersack züchten. Diese Erreger ließen sich kulturell fortlaufend weitervermehrten, wie bei Infektionsversuchen an Freiwilligen gezeigt werden konnte.

3. Chlamydia trachomatis als Krankheitserreger im Urogenitaltrakt

NEISSER konnte bereits 1879 die Zusammenhänge zwischen Gonokokken-Infektion des Genitaltraktes von Müttern und der Konjunktivitis ihrer Neugeborenen aufzeigen. (2,13)

1909 fanden mehrere Autoren auch Einschlüsse in den Epithelzellen der Augenbindehaut von Neugeborenen die den von HALBERSTÄDTER und PROWAZEK in trachomatösen Augen gefundenen Einschlüssen ähnelten. (13,20,29)

Solche C.-Einschlußkörperchen wurden 1910 in Zervixepithelzellen und aus dem Urethralbereich von Müttern nachgewiesen, die Kinder mit Einschluß-Konjunktivitis geboren hatten.(39) Im gleichen Jahr fand auch LINDNER (43) Einschlüsse in Abstrichen der männlichen Urethra.

Diese Erkenntnisse blieben jedoch jahrzehntelang ohne Beachtung, sodaß die Bedeutung der Trachomerreger auf die Augeninfektionen beschränkt blieb.

Erst als JONES (40), DUNLOP und Mitarbeiter (14) 1964 die kulturelle Züchtung von C.tr. aus Abstrichen der männlichen Harnröhre auch bei Patienten ohne Augenauffektionen gelungen war, wurde dieser Entzündungserreger vermehrt im UGT nachgewiesen.

Seit etwa 1950 wurde vor allem in England und den Vereinigten Staaten eine deutliche Zunahme der Morbiditätsrate an nichtgonorrhöischer, unspezifischer U. beobachtet.(85,86) In diesem Zusammenhang interessierte uns die Frage ob C.tr. auch in unserem Krankengut bei unspezifischer U. bzw. P.U. gezüchtet werden könnte.Besonders bestärkt wurde diese Vermutung durch den Nachweis der sexuellen Übertragbarkeit der genitalen C.-Stämme.(10,32,60,67)

Nachdem GORDON und QUAN (24) 1965 die Zellkultur-Technik auf Mc-Coy-Zellen beschrieben hatten, konnte die umständliche, wenig empfindliche und zeitraubende Hühnerei-Technik zu Gunsten des wesentlich einfacheren und sensibleren Isolierungsverfahrens verlassen werden.(11,12,22)

4. Morphologischer Aufbau der Chlamydien

C. sind rundlich-ovaläre, unbewegliche Parasiten von fast identischer Morphologie, welche sich im Zytoplasma lebender Wirtszellen mittels eines - nur ihnen eigenen - Entwicklungszyklus vermehren.Ihre Größe von etwa $0,2-1,5\mu$ ist vom jeweiligen Stand dieses Entwicklungszyklus abhängig.Die C. sind von

einer Zellwand umgeben, die in Struktur und chemischem Aufbau den gramnegativen Bakterien ähnelt. Sie lassen sich mit Anilinfarbstoffen gut anfärben und verhalten sich gramnegativ. (26,46,73)

5. Vermehrungszyklus der Chlamydien

C. benötigen ebenso wie die Viren für ihre Vermehrung lebendes Gewebe. Der Vermehrungszyklus beträgt 40-48 Stunden und beginnt mit dem Eindringen des Elementarkörperchens in eine Wirtszelle.

Das Elementarkörperchen, 0,2-0,4 μ groß, aus einem elektrodichten Nukleoid mit zahlreichen Ribosomen und einer kompakten, starren Wand, stellt die extrazelluläre, infektiöse Vermehrungsform der C. dar.

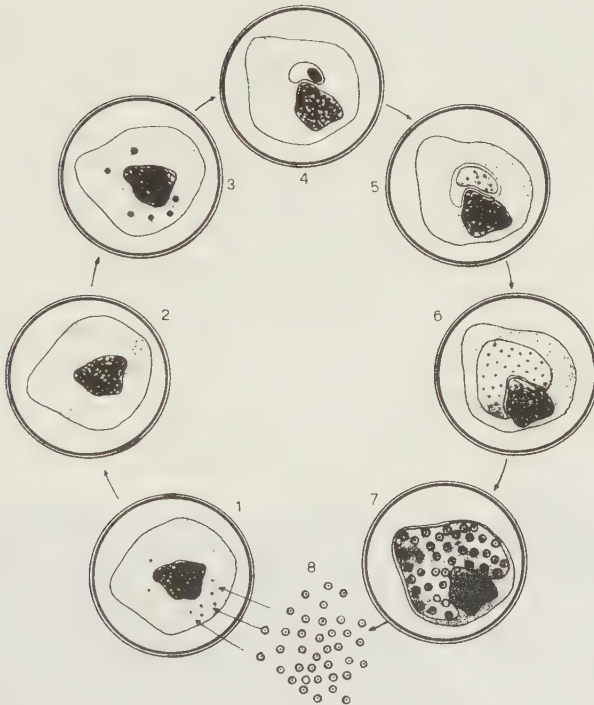
Die Aufnahme in die Wirtszelle, bei der es sich immer um eine Epithelzelle handelt, erfolgt durch Phagozytose. Das Elementarkörperchen behält seine morphologische Einheit bei, vergrößert sich und wird zum Initialkörperchen mit einer Größe von 0,8-1,5 μ .

Diese nicht infektiöse, vegetative Form im Vermehrungszyklus der C. besteht aus amorphem Kernmaterial, ribosomalen Elementen und brüchiger Zellwand. Durch einfache Querteilung entstehen unter Beteiligung von Mesosomen aus ihm weitere Initialkörperchen, die sich wieder teilen können und so fortlaufend das Zytoplasma in der Wirtszelle abbauen.

In diesem Entwicklungsstadium erscheinen die Initialkörperchen als Mikrokolonien innerhalb einer zytoplasmatischen Vakuole durch Einstülpfen der Wirtszellenmembran, sodaß es zur Bildung des sogenannten Einschlußkörperchens in der Zelle kommt.

Nach Durchschreiten einer Intermediärform entstehen aus den Initialkörperchen durch Verkleinerung und Verdichtung wieder Elementarkörperchen, die in das Innere der Vakuole abgegeben

Abb. 1 : Schematische Darstellung des Lebenszyklus von *Chlamydia trachomatis*. (48)



1. Elementarkörperchen beim Eintritt in eine Epithelzelle. 2.-6. verschiedene Entwicklungsstadien eines Einschlußkörperchens im Zytoplasma. 7. Ansammlung von Elementarkörperchen im Zytoplasma. 8. Elementarkörperchen, die nach Bersten einer Zelle zur Reinfektion neuer Epithelzellen freigeworden sind.

werden. Ist die Vakuole ganz von diesen kleinen Partikeln gefüllt, so wird die Zellmembran zerstört, die Elementarkörperchen werden frei, und der Lebenszyklus kann sich wiederholen. (36,46,51), (Abbildung 1)

Die Phagozytose von mehr als einem Elementarkörperchen in eine Zelle führt zur Entwicklung mehrerer Einschlußkörperchen im Zytoplasma. (48)

Diese von BEDSON (51) bereits 1932-1934 im Lichtmikroskop gefundenen, morphologisch verschiedenen Entwicklungsformen im Vermehrungszyklus der C. konnten mit Hilfe des Elektronenmikroskops bestätigt werden:

Elementarkörperchen behalten dabei ihre morphologische Integrität, vermehren sich durch wiederholte Zweiteilung und machen im Gegensatz zu den Viren keine Eklipse durch.

Der Verlust der Infektiosität in der Frühphase des Lebenszyklus ist nicht durch eine Eklipse der eingedrungenen Partikel bedingt, sondern durch ihre Umbildung in große, vegetative Zellen = Initialkörperchen, die entweder keine oder nur eine schwache Infektiosität besitzen.

DNS und RNS finden sich sowohl bei den großen als auch den kleinen Zellformen während der Entwicklungsphase der C. . In den Initialkörperchen ist die DNS in Form spiralig gewundener, in unregelmäßiger Weise über das ganze Zytoplasma verteilter Fäden vorhanden.

In den Elementarkörperchen dagegen findet sich die DNS in einem elektronendichten Nukleoid, das ein Kernäquivalent darstellt und durch keine Membran gegen das Zytoplasma abgegrenzt ist.

Der größte Teil der RNS ist in den im Zytoplasma liegenden Ribosomen enthalten. Diese RNS-haltigen Ribosomen sind für die Sensibilität gegenüber Antibiotika verantwortlich. (46,51)

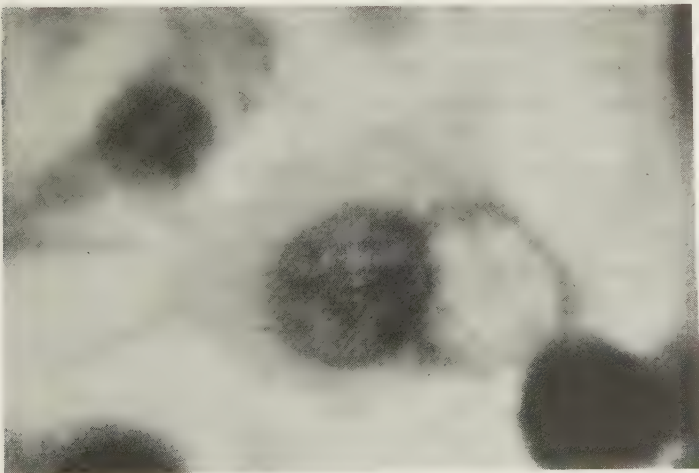
6. Färberisches Verhalten der Chlamydien

In Direktabstrichen, in Abstrichen von infizierten Dottersackmembranen und auch in Zellkulturen lassen sich C. mit frisch angesetzter GIEMSA-Lösung gut und einfach nachweisen.(37)

Die Initialkörperchen erscheinen bei mikroskopischer Betrachtung blau, die Elementarkörperchen rötlich-blau.Im Verlauf des Entwicklungszyklus bilden sich in der Wirtszelle Einschlußkörperchen, die sich mit GIEMSA-Lösung als ovale oft auch bohnenförmige Gebilde in unmittelbarer Nähe des Zellkerns anfärben lassen.

Die Einschlußkörperchen sind außerdem durch die in ihnen liegenden Initial - oder auch Elementarkörperchen blau bis rötlich-blau getüpfelt.(30,37), (Abbildung 2)

Abb. 2 : HALBERSTÄDTER-PROWAZEK'sches Einschlußkörperchen (GIEMSA-Färbung, 800-fache Vergrößerung)



Daneben hat sich für Routinezwecke die Färbung mit verdünnter LUGOL'scher-Lösung, bei der sich die in der Zelle liegenden Einschlusskörperchen als dunkelbraune oder mahagonifarbene Partikel darstellen, bewährt.(37,46)

Mit dieser Methode läßt sich jedoch nur C.tr. anfärben, da die Initial- und Elementarkörperchen innerhalb der Vakuole in eine glykogenhaltige Matrix eingebettet sind und nach der Jodfärbung sichtbar werden.

Das Glykogen wird etwa 30 Stunden nach dem Eindringen des infektiösen Partikels in der Zelle nachweisbar, nach 48 Stunden wird ein Maximum erreicht, und nach 72 Stunden beginnt das Glykogen wieder zu verschwinden. Daraus ergibt sich, daß das Glykogen nur während eines Teils des Vermehrungszyklus vorhanden ist; sehr junge und sehr alte Einschlüsse lassen sich demnach nicht mit LUGOL'scher-Lösung anfärben.(20,25)

Auf Grund des unterschiedlichen färberischen Verhaltens gegenüber Jod teilt man heute die C. auch in die Untergruppen A und B ein.

Bei der Untergruppe A ergeben die Einschlusskörperchen mit glykogenhaltiger Matrix eine positive Jodfärbung, bei der Untergruppe B entstehen Einschlusskörperchen ohne Glykogen-Matrix mit negativer Jodfärbung.(2,26,41), (Tabelle 1)

Weitere Färbungen, bei denen es sich um aufwendige Kontrastfärbungen handelt, wurden von MACCHIAVELLO, GIMINEZ oder CASTANEDA vorgeschlagen.(77)

In neuerer Zeit wurde auch eine Färbung mit Fluorescein-Isothiocyanat-markierten C.-Antikörpern beschrieben, die sich als störanfällig und teuer erwiesen und sich deshalb nicht durchgesetzt hat.(37,68)

Tab. 1 : Einteilung der Chlamydien in Untergruppen
infolge ihres unterschiedlichen färberischen Verhaltens gegenüber Jodlösung.

Untergruppe A : Kompakte, glykogenhaltige Einschlußkörperchen, die sich mit Jodlösung anfärben lassen, finden sich bei den

- TRIC - Organismen,
- meisten Angehörigen der Lymphogranuloma inguinale - Gruppe,
- und bei wenigen tierpathogenen Chlamydien, z.B. Mäusepneumonitis-Erreger.

Untergruppe B : Unregelmäßige, nichtglykogenhaltige Einschlußkörperchen mit negativer Jodfärbung finden sich bei

- einigen Vertretern der Lymphogranuloma inguinale - Gruppe
- Psittakose, Ornithose,
- den meisten tierpathogenen Chlamydien, z.B. Rinder-, Schaf-Abort-Erreger.

7. Stoffwechsel der Chlamydien

Die C. besitzen in ihrer extrazellulären Form wenige metabolische Aktivitäten. Diese sind von der exogenen Anwesenheit organischer und anorganischer Kofaktoren einschließlich energiereicher Phosphate abhängig.

Wenn all diese Bedingungen erfüllt sind, können die C. außerhalb ihrer Wirtszellen Glukose, Brenztraubensäure und Glutaminsäure abbauen, sowie Kohlendioxyd erzeugen und bestimmte Lipide synthetisieren.

Innerhalb der Wirtszelle sind die C. zur Protein-, RNS- und DNS-Synthese befähigt. Wegen eines fehlenden Mechanismus zur Energieerzeugung sind sie auf eine intrazelluläre Existenz angewiesen. (51)

8. Verhalten der Chlamydien gegenüber Chemotherapeutika

Wirksame Substanzen :

Das wesentlichste Unterscheidungsmerkmal der C. gegenüber den Viren liegt in ihrem Verhalten zu antimikrobiellen Substanzen.

Einige C. , insbesondere die der Untergruppe A sind gegenüber S u l f o n a m i d e n empfindlich, doch hat diese Empfindlichkeit in den letzten Jahren deutlich abgenommen. (86)

Die Folsäuresynthese, zu der einige C. durch das Vorhandensein entsprechender Enzyme befähigt sind, wird durch die Sulfonamide blockiert. (51)

P e n i c i l l i n hemmt die Vermehrung der C. , indem es mit der Synthese ihrer Zellwand-Mukopeptide interferiert. (36)
Auffällig ist aber, daß Penicillin gegenüber C. nur in vitro und kaum oder nur wenig in vivo wirksam ist; es wird deshalb für therapeutische Zwecke nicht verwendet. (38,52)

In analoger Weise wie Penicillin wirkt D-C y c l o s e r i n.

T e t r a z y k l i n e hemmen die ribosomale Protein-synthese. Sie verhindern in frühen Entwicklungsstadien die vorhandenen intrazellulären Vermehrungsprodukte der C. und somit die Ausreifung von infektiösen Partikeln, sodaß bei zu kurzer Anwendungsdauer wieder infektiöse Elementarkörperchen entstehen können. (36) Tetracykline werden bei C.-Erkrankungen häufig verwendet. (10,52,86)

E r y t h r o m y c i n beeinflusst ebenfalls den intrazellulären Vermehrungszyklus der C. , indem es deren Reifungsvorgang unterbricht. (36) Es wird häufig als Therapeutikum eingesetzt. (10,52)

In neuerer Zeit wird auch über eine sehr gute in-vivo-Wirksamkeit von **O l e a n d o m y c i n** , **S p i r a m y c i n** (86) und **R i f a m p i c i n** (78) berichtet.

Unwirksame Substanzen :

S t r e p t o m y c i n , lange Zeit das wichtigste Antibiotikum beim C.-Kulturversuch, wird heute durch Gentamycin ersetzt (82), da durch die Streptomycin-Zugabe die Anzahl der gebildeten Einschlußkörperchen in den Kulturen reduziert wird.

Mit **G e n t a m y c i n** , ein dem Streptomycin nahestehendes Aminoglykosid, läßt sich bei relativ geringer Dosierung ein Wachstum von gramnegativen und grampositiven Bakterien sowie von Mykoplasmen in Untersuchungsproben unterdrücken, ohne daß die C.-Vermehrung beeinträchtigt wird, wie WENTWORTH 1973 (82) zeigen konnte.

Gentamycin zeigt auch keinen toxischen Effekt auf Zellkulturen, sodaß es bei C.-Isolierungsversuchen auf Zellkulturen gut geeignet ist.

Als weitere Antibiotika ohne C.-Wirksamkeit seien noch **V a n c o m y c i n** , **B a c i t r a c i n** , **P o l y m y x i n B** , **A m p i c i l l i n** oder **N a l i d i x i n s ä u r e** erwähnt. (36,78,86)

N y s t a t i n , als Antimykotikum, beeinflusst ebenfalls die C.-Vermehrung nicht. (36)

9. Beziehungen der Chlamydien zu Bakterien und Viren

C. und Bakterien zeigen folgende gemeinsame Eigenschaften (26,31,50) :

1. Ihre Vermehrung erfolgt durch Zweiteilung unter Beteiligung von Mesosomen bei der Bildung einer Teilungswand.
2. Sie besitzen DNS-haltige Nukleotide ohne Grenzmembran.
3. Sie besitzen eine Zellmembran aus muraminsäurehaltigen Mukopeptiden ähnlich den gramnegativen Bakterien.
4. Sie besitzen Ribosomen mit Antibiotika-Sensibilität.

Trotz dieser gemeinsamen Eigenschaften mit den Bakterien wären die C. wegen ihres streng intrazellulären Vermehrungszyklus vielmehr den Viren zuzuordnen. Dennoch ist diese Zuordnung aus folgenden Gründen nicht möglich :

1. Viren besitzen nur einen einzigen Nukleinsäuretyp; die Elementar- wie auch die Initialkörperchen enthalten aber beide Nukleinsäuretypen.
2. Viren sind unfähig zu wachsen und sich zu teilen.
3. Viren werden, induziert durch ihr genetisches Material, von der Wirtszelle reproduziert.
4. Viren besitzen keine Enzymsysteme, welche potentielle Energie von Nahrungsstoffen in hochenergetische Verbindungen umzuwandeln vermögen.

Daraus ergibt sich, daß C. eine Übergangsgruppe zwischen Bakterien und Viren darstellen.

10. Physikalisches und chemisches Verhalten der Chlamydien

1. Temperaturabhängigkeit

Bei Temperaturen von -40°C bis -80°C oder in flüssigem Stickstoff bei -170°C bleiben C. mindestens sechs Monate lebensfähig. (8,36)

Durch das Einfrieren kommt es aber zu einem Titerverlust, d.h. zu einer Verminderung der infektiösen Einheiten. Mehrmaliges Einfrieren und Wiederauftauen läßt den Titer weiter absinken.(7,57)

Bei 0°C bis +4°C überleben die C. etwa 24 bis 48 Stunden (59), in Dottersacksuspensionen sogar bis zu neun Tagen, dies ist durch die komplexe und für die C. optimal geeignete Zusammensetzung dieser Suspension bedingt.(36)

Ohne Proteinzusatz im Aufbewahrungsmedium inaktivieren die C. auch bei 0°C bis +4°C innerhalb weniger Stunden.(7,8)

Bei 37°C überleben nur 0,01 % der ursprünglich vorhandenen C.-Partikel einen Zeitraum von 48 Stunden.

Eine vollständige Abtötung wird durch Erhitzen bei 56°C von 30 Minuten oder durch Erhitzen bei 60°C von 10 Minuten erreicht.(36)

2. Abhängigkeit vom Aufbewahrungsmedium

Die C. sind in Suspensionen von Dottersackpräparationen gut lebensfähig zu erhalten wegen der stabilisierenden Wirkung der enthaltenen Proteine, Lipide und anderen Makromolekülen.(36)

Im C.-Aufbewahrungsmedium sollen wegen ihrer protektiven Wirkung Proteine, Kohlehydrate(z.B. Glukose, Saccharose, Sorbit) und Salze zugesetzt sein.(7,8)

Ein pH-Wert von 7,0-7,4 ist zur Erhaltung der Infektiosität ebenfalls erforderlich.(5,36)

Sehr empfindlich reagieren C. gegenüber Austrocknung, sodaß Abstrichtupfer zum C.-Nachweis möglichst schnell in eine Nährlösung gebracht werden müssen, die den genannten Kriterien entspricht.(5,45)

3. Abhängigkeit gegenüber Chemikalien

C. werden durch Behandlung mit Äther, Formalin, Phenol, Kresol, Quecksilberchlorid und Äthylalkohol inaktiviert.

Keinen Einfluß haben dagegen Merthiolat, Kaliumpermanganat und Wasserstoffperoxyd.(36)

11. Kulturelle Züchtung der Chlamydien

1. Im Hühnerembryo

C. tr. wächst gut in den Zellen, die den Dottersack des sich entwickelnden Hühnerembryos auskleiden. Chlamydien-verdächtiges Untersuchungsmaterial wird hierbei in das Lumen des Dottersackes von Hühnereiern injiziert, welche 6-8 Tage bei $38,5^{\circ}$ - $39,0^{\circ}\text{C}$ und gesättigter Luftfeuchtigkeit vorbebrütet worden sind. Die Bebrütungstemperatur für die beimpften Eier beträgt dann 35°C , da durch niedrigere Temperaturen die Stabilität der reifen intra- und extrazellulär gelegenen Partikel begünstigt werden soll. Höhere Temperaturen bringen geringere Infektionsraten.

Embryonen, die innerhalb von 48-72 Stunden nach Infektion absterben, werden als unspezifisch verworfen. (20,36,77)

Die C.-Isolierungsergebnisse sind, wie Versuche mit C.-Stämmen gezeigt haben, sehr unregelmäßig. So können identische Ei-Infektionsdosen einerseits nach 4-5 Tagen ein Absterben des Hühnerembryos zur Folge haben, andererseits kann der Embryo aber auch 13-14 Tage oder noch länger überleben. (22,36)

In der Regel werden die beimpften Eier 7 Tage nach der Infektion geerntet und Ausstriche von der Dottersackmembran angefertigt. Das Dottersackgewebe enthält bei positivem Nachweis einzeln liegende oder auch verklumpte Anhäufungen von Elementarkörperchen, die sich mit den verschiedenen Färbemethoden darstellen lassen. Intrazelluläre Initialkörperchen oder Einschlußkörperchen sind in Dottersackpräparaten selten anzutreffen. (77)

Die Züchtung der C. auf der Dottersackmembran von vorbebrüteten Hühnerembryonen ist mit einigen Schwierigkeiten verbunden. Für eine erfolgreiche Kultivierung müssen die befruchteten Eier von Hühnern stammen, die keine das C.-Wachstum hemmende, Antibiotikazusätze im Futtermittel erhalten haben.

Zum anderen sind die einzelnen Hühnereier unterschiedlich empfänglich für eine Infektion mit C. und außerdem jahreszeitlichen Schwankungen in ihrer Empfänglichkeit für Infektionen unterworfen.

Eine weitere Schwierigkeit stellt die bakterielle Verunreinigung dar, die vom Untersuchungsmaterial jeder Herkunft ausgehend und oft, trotz üblicher Antibiotikazusätze, ein vorzeitiges Absterben der Embryonen nicht verhindern kann. Außerdem sind zum positiven C.-Nachweis häufig bis zu sechs Kulturpassagen notwendig.(2,20,22,23,36,81)

2. In der Zellkultur

Das Wachstum der C. erfolgt auch in einschichtigen Zellkulturen, wobei die verschiedensten Wirbeltierzellen, z.B. von Kaninchen (embryonale Kaninchennierenzellen) (36), Hamstern (BHK = Baby-Hamster-Kidney-Zellen) (57,64), Mäusen (Mc-Coy-Zellen) (24), Hühnern (embryonale Hühnerentodermzellen) (36,80) oder auch vom Menschen (HeLa-Zellen) (4,26,27,33) stammen können.

In den Zellen kann, besonders wenn das chlamydienhaltige Inokulum durch hochtouriges Zentrifugieren an die Zelloberfläche adsorbiert wird und von hier aus in das Zellinnere penetriert, ein C.-Entwicklungszyklus induziert werden, so daß Einschlußkörperchen in der gefärbten Zellschicht nachweisbar werden.(23,24,33)

Die Zentrifugation stellt daher einen wesentlichen Schritt im C.-Isolierungsverfahren dar. Bereits 1960 konnten WEISS und DRESSLER (80) zeigen, daß bei Rickettsien und großen Viren eine Steigerung der positiven Befunde von 1% auf 100% dadurch bewirkt wird, daß infektiöse Partikel auf die Zelloberfläche zentrifugiert werden. Ein noch besseres Isolierungsergebnis wird durch Zentrifugieren bei mindestens 1.500 g (7,8,57) und einer Temperatur von 32°-35°C erreicht.(6) Das Optimum liegt bei 35°C.(7,8,33,57)

Ohne Zentrifugation werden nur wenige C.-Partikel an die Zellen adsorbiert und somit weniger Einschlußkörperchen gebildet.(6,8,21,33)

Neben dem Zentrifugieren spielt die Vorbehandlung der Zellkulturen für eine erfolgreiche C.-Isolierung eine nicht unerhebliche Rolle. Zu der schon vor einiger Zeit beschriebenen γ - oder Röntgen-Bestrahlung der Zellen (24) wurden in den letzten Jahren weitere Vorbehandlungsmethoden mit chemischen Agentien entwickelt, wie die mit 5-Jod-2'-Desoxyuridin (71,83), Dextran (3,65), Gelatina Nordica (62) oder Cytochalasin B (72). Ein gutes C.-Isolierungsergebnis soll auch nach der Beimpfung durch Zusatz von Zykloheximid zur Zellkultur und entsprechender Zentrifugation erzielt werden.(34)

Mit der Zellkulturtechnik werden, im Gegensatz zur Hühner-eitechnik, die C. nicht als Elementarkörperchen sondern als initial - und in späteren Entwicklungsstadien auch als elementarkörperchenhaltige Einschlußkörperchen dargestellt.(30)

Beim Wachstum-in vitro-werden anders als-in vivo-die C. nicht als Elementarkörperchen aus den infizierten Zellen eliminiert. Das infektiöse Material muß hier entweder durch Frieren und Wiederauftauen, durch Ultraschall oder auch durch mechanisches Aufbrechen der Zellen freigesetzt werden, um in der Passage in anderen Zellkulturen einen C.-Lebenszyklus beginnen zu können.(20,21,24,33)

12. Verhalten der Chlamydien im Tierversuch

Während viele Erreger der PLT-Gruppe für eine Reihe von Tieren, insbesondere für alle ihre natürlichen Wirte sowie für die weiße Maus pathogen sind (20,26), können Erreger der Spezies C.tr. experimentell auf Primaten wie Orang-Utans, Schimpansen, Paviane oder Makakken übertragen werden.(20,26)

Nur bei Menschen ist eine Spontaninfektion mit diesen Erregern möglich.(20,36)

Zahlreiche Versuche, C. der Trachomgruppe auf Nager oder andere Laboratoriumstiere zu übertragen, schlugen fehl.

Mit einem über viele Eipassagen geführten und in seinem biologischen Verhalten veränderten Laborstamm ist es gelungen, ein intrazerebrales Wachstum in Mäusen zu erzeugen; dies konnte mit menschlichem Untersuchungsmaterial bisher nie erzielt werden.(36)

Versuche, genitale Infektionen bei Tieren hervorzurufen, waren ebenfalls nur bedingt erfolgreich. So konnte mit einem Trachomstamm die Zervix eines Pavians infiziert werden, so daß Einschlußkörperchen in den Zervix-Epithelzellen nachgewiesen werden konnten. Die Infektion, die bis zu 2 Wochen nach der Inokulierung feststellbar war, ging mit der Bildung spezifischer Antikörper einher.(9) Eine Erkrankung trat bei diesem Tier jedoch nicht auf.

13. Immunologisches Verhalten der Chlamydien

Die C. beider Spezies, C. trachomatis und C. psittaci einschließlich der tierpathogenen Stämme, besitzen neben einem gemeinsamen, thermostabilen, komplementbindenden Antigen verschiedene thermolabile Antigene, die auf eine Spezies oder einige eng verwandte Stämme beschränkt sind. Beide Antigenarten können mittels chemischer oder physikalischer Verfahren aus intakten, infektiösen Partikeln oder deren Komponenten gewonnen werden.(3,20,26)

Das G r u p p e n a n t i g e n ist seiner chemischen Natur nach ein Polysaccharid-Hapten, das aus einem Lipopolysaccharidkomplex durch Verseifung gewonnen werden kann. Der Lipopolysaccharidkomplex wiederum besteht aus einem Polysaccharidester der Fettsäure. Das gruppenspezifische, wasserlösliche Polysaccharid-Hapten-Antigen ist ein saures Polysaccharid von großem Molekulargewicht. Die saure Komponente ist für seine Antigenität von entscheidender Bedeutung.(3,20)

Die Komplementbindungsreaktion mit dem C.-Gruppenantigen hat sich wegen ihrer Unempfindlichkeit und Unspezifität zum Nachweis von Infektionen mit C.tr. nicht bewährt.(26)

Die t y p e n s p e z i f i s c h e n , thermolabilen Antigene der C. können durch verschiedene Reinigungsverfahren erhalten werden. Sie bestehen aus einem Proteinanteil, der an ein Lipid gebunden ist. Die antigenen Eigenschaften sind durch Hitze, Phenol oder Salzsäure sehr schnell zu zerstören. Wegen ihrer geringen Stabilität sind die typenspezifischen Antigene für routinemäßige Komplementbindungsreaktionen ebenfalls nicht geeignet.(3,20,26)

Aus der Allantoisflüssigkeit von chlamydien-infizierten Hühnerembryonen kann eine Fraktion gewonnen werden, die Mäuse- und Hühnererythrozyten zu agglutinieren vermag. Die chemische Untersuchung des H ä m a g g l u t i n i n s ergab als Bestandteile Lecithin und ein Nukleoprotein. Dieses Antigen ist allen C. gemeinsam, es ist ebenfalls gruppenspezifisch, wie mit hämagglutinationshemmenden Antiseren bewiesen werden konnte.(3,20,26)

14. Toxische Wirkung der Chlamydien

Eine toxische Wirkung von C.tr., wie auch von anderen C.-Arten, läßt sich durch intravenöse Verabreichung an Mäusen nachweisen. Nach Injektion von C.tr.-Suspensionen tritt der Tod gewöhnlich innerhalb 24 Stunden ein. Das "Toxin" scheint eng an die Elementarkörperchen gebunden zu sein, da es sich nicht von ihnen abtrennen läßt. Durch Vorbehandlung mit großen Dosen des aktiven Agens können Mäuse gegen die toxische Wirkung immunisiert werden. Diese Maßnahme ermöglichte eine immunologische Differenzierung innerhalb der Spezies C.tr., wobei sich eine Unterteilung in 2 Hauptgruppen mit einem gewissen Überschneidungsbereich ergab.(3,20,26)

Heute jedoch ist diese Unterteilung durch die Einführung neuer immunologischer Differenzierungsmethoden bedeutungslos geworden.(17,66)

15. Mikroimmunfluoreszenztest zur Typen-Differenzierung

Vor einigen Jahren ist ein Mikroimmunfluoreszenztest zur immunologischen Differenzierung der C. entwickelt worden, der den erwähnten, beschwerlichen Mäuse-Toxin-Neutralisationstest auch auf Grund seiner Spezifität und Sensibilität vollkommen verdrängt hat.

Mit einem indirekten Mikroimmunfluoreszenztest können heute auch C.-Antikörper in Patientenseren mit Prototyp-Antigenen unter Zusatz von Fluoreszeinisothiocyanat-markiertem Antihumanglobulin zuverlässig nachgewiesen werden.(17,66)

Innerhalb der Spezies C.tr. konnten inzwischen verschiedene Subtypen von einander abgetrennt werden, die teilweise in komplizierter, immunologisch verwandter Beziehung stehen.(3,66)

Die aus dem UGT isolierten Stämme gehören vorwiegend den Immunotypen D und E an.(26)

16. Krankheitsbild, Diagnose und Therapie bei genitaler Infektion mit Chlamydia trachomatis

Krankheitsbild

Beim Mann ruft eine genitale Infektion mit C.tr. eine unspezifische, abakterielle Urethritis und seltener eine Prostatourethritis hervor, die mit oder ohne wäßrig-schleimigen Fluor einhergehen kann.(18,20,40,71,75) Die meisten dieser Urethritiden verlaufen relativ mild, es besteht aber auch Neigung zur chronischen Erkrankung.(42)

Im weiblichen Genitaltrakt kann eine C.-Infektion eine Zervizitis mit oder ohne Fluor (20,32,58), eventuell auch eine

Salpingitis hervorrufen.(11) Diese genitalen Infektionen mit C.tr. verlaufen bei der Frau meist symptomlos.(32,67) Urethritiden als Folge einer Infektion mit C. sind aber bisher nicht beobachtet worden.

In neuerer Zeit wird auch über eine Beteiligung der C. bei Epididymitiden (18), Endometritiden und Proktitiden beziehungsweise sogar über entzündliche Erkrankungen im Beckenraum diskutiert.(58)

Diagnose

Die Diagnose einer C.-Infektion erfolgt durch den direkten Erregernachweis auf Zellkulturen.(33)

In der männlichen Urethra beziehungsweise im weiblichen Genitaltrakt wird das Untersuchungsmaterial durch Abstrich oder Abkratzen von der Urethrawand, der Zervix beziehungsweise dem Zervixkanal gewonnen und anschließend auf Zellen verimpft.(15)

Serologische Untersuchungen von Serumpaaren haben sich im Routine-Labor bisher nicht durchsetzen können, da die einfache Komplementbindungsreaktion einerseits keine brauchbaren Ergebnisse liefert, und der spezifische Mikroimmunfluoreszenztest andererseits zu aufwendig ist.(26)

Therapie

Bei der Behandlung der genitalen C.-Infektionen haben sich oral applizierbare Tetrazykline besonders bewährt.

Die Dosierung liegt hierfür bei 4x250 mg/die über 21 Tage beziehungsweise 4x500 mg/die über 14 Tage.(27)

Erythromycin ist ebenfalls gut wirksam, es soll vor allen Dingen bei Frauen in Schwangerschaft und Stillzeit verabreicht werden.(;o,52,85)

Bei vielen genitalen C.-Infektionen ist außerdem innerhalb von 6 bis 8 Wochen auch eine spontane Ausheilung möglich.(42)

IV. Eigene Untersuchungen

1. Material und Methoden

1.1. Zellkulturen und Nährmedien

Zellen

Die Anzüchtung der C. erfolgte auf Mc-Coy-Zellen, die von heteroploiden Fibroblasten-Tumor-Zelllinien der Maus stammen. (33,34,57) (+)

Nährmedien

Als Wachstumsmedium bewährte sich das MEM-Medium mit Earle-Salzen (Fa. Labor-Service, München) unter Zusatz von 10% Foetalem Kälberserum (FKS) (Fa. Labor-Service) und je 10 μg Refobacin^R (Fa. Merck) /ml und 100 μg Streptothentat^R (Fa. Grünenthal) /ml.

Zur Erreichung eines pH-Wertes von 7,2 wurde je nach Bedarf pro Liter Medium als Puffersubstanz 50 bis 80 ml einer 5,6%-igen NaHCO₃-Lösung zugesetzt, da die benützten Mc-Coy-Zellen sehr empfindlich auf pH-Schwankungen des Mediums reagierten. (5,33)

Als Erhaltungsmedium für die Zellen diente das oben beschriebene MEM-Medium, wobei lediglich der Zusatz von FKS auf die Hälfte, also 5%, reduziert wurde.

Zur C.-Isolierung setzten wir dem Erhaltungsmedium noch 5 ml einer 10%-igen Glukoselösung pro 100 ml zu. (5)

(+) Die Mc-Coy-Zellen für unsere Versuchsreihe wurde als 131. Kulturpassage von der Fa. Flow aus Schottland bezogen.

Kultivierung

Die Züchtung der Mc-Coy-Zellen erfolgte in Roux-Schalen, die bei 37°C bebrütet wurden. Folgender Vermehrungsmodus kam zur Anwendung :

Die zu einem dichten Rasen ausgewachsenen Zellen wurden - nach Entfernung des Wachstumsmediums und kurzem Vorspülen - mit 15 ml STV-Lösung (1,25% Trypsin und 1% Versene in Salzlösung) überschichtet und dann 5 Minuten bei 37°C inkubiert. Nach dieser Zeit waren die Zellen von der Glasoberfläche abgelöst. Anschließend zentrifugierten wir die Zellen 5 Minuten bei 1.200 Umdrehungen/Minute und resuspendierten den sedimentierten Zellrückstand im Anzuchtmedium.

Die Subkultivierung geschah jeweils in einem Verhältnis von 1:2 zur Ausgangsmenge, d.h. die resuspendierten Zellen wurden zu gleichen Teilen auf zwei - mit 75 ml Anzuchtmedium beschickte - Roux-Schalen verteilt.

In der Regel war bei einer Bebrütungstemperatur von 37°C innerhalb von 5 bis 7 Tagen erneut ein dichter Zellrasen auf den Kulturflaschen ausgewachsen.

Alle 48 Stunden ersetzten wir das verbrauchte Medium durch eine äquivalente Menge frischen Anzuchtmediums.

1.2. Technik der Chlamydien-Isolierung

1.2.1. Vorbereitung der Zellkulturen

Wie seit längerer Zeit bekannt, wird eine Verbesserung der C.-Isolierungsraten durch eine vorangehende γ - oder Röntgen-Bestrahlung der Zellkulturen erreicht. (24)

Zu diesem Zweck wurden die Zellen einer dicht bewachsenen Roux-Schale nach üblicher Behandlung mit STV-Lösung auf 2 Einweg-Plastik-Kulturflaschen (Fa. Falcon) von 75 cm² Wachstumsfläche ausgesät. (+)

(+) Die Falcon-Flaschen erwiesen sich in Größe und Material für den Bestrahlungsvorgang als besonders gut geeignet. (5)

Sobald auf diesen Plastikflaschen eine einschichtige Zellkultur ausgewachsen war, erfolgte die Bestrahlung der besser ausgewachsenen Kulturflasche an einer ^{60}Co -Anlage mit 5.000 rad.(⁺)

Die Bestrahlung dauerte, abhängig von der Intensität der ^{60}Co -Quelle, 15 bis 20 Minuten. Nach dem Bestrahlen mußte in den darauffolgenden Tagen alle 48 Stunden zur Entfernung eventuell abgestorbener Zellen ein Mediumwechsel durchgeführt werden. Die Bebrütung geschah üblicherweise bei 37°C 5 bis 7 Tage lang.

Durch die angegebene Strahlendosis kam es zu deutlichen morphologischen Veränderungen an den Mc-Coy-Zellen, die sich zu Riesenzellen mit mehreren, unregelmäßig geformten Kernen und reichlich Zytoplasma umbildeten. (21,22,24) (Abbildung 3,4)

Durch die γ -Bestrahlung sollen aber auch bei der anschließenden Beimpfung der Zellen mit chlamydienhaltigem Untersuchungsmaterial bis zu 4x mehr Einschlußkörperchen ausgebildet werden als in unbestrahlten Zellkulturen. In bestrahlten Zellen sind außerdem die Einschlüsse größer und auch besser aufzufinden. (21,22,24)

1.2.2. Verarbeitung der Zellkulturen

Nach 5 bis 7 Tagen erfolgte die Weiterverarbeitung der bestrahlten Zellkulturen. Hierfür wurden die Zellen mit STV-Lösung von der Plastikflasche abgedaut, zentrifugiert, in 10 ml Anzuchtmedium resuspendiert und davon 0,2 ml mit 0,8 ml einer 0,15%-igen Eosin-Lösung gemischt. Von dieser Zellverdünnung ausgehend, ermittelten wir unter Zuhilfenahme einer NEUBAUER-Zählkammer eine durchschnittliche Zellzahl und multiplizierten mit dem Verdünnungsfaktor. Damit konnte die

(⁺) Am Radiologischen Institut der Medizinischen Klinik der Universität München.

Abb. 3 : Unbestrahlte Mc-Coy-Zellen
(200-fache Vergrößerung)

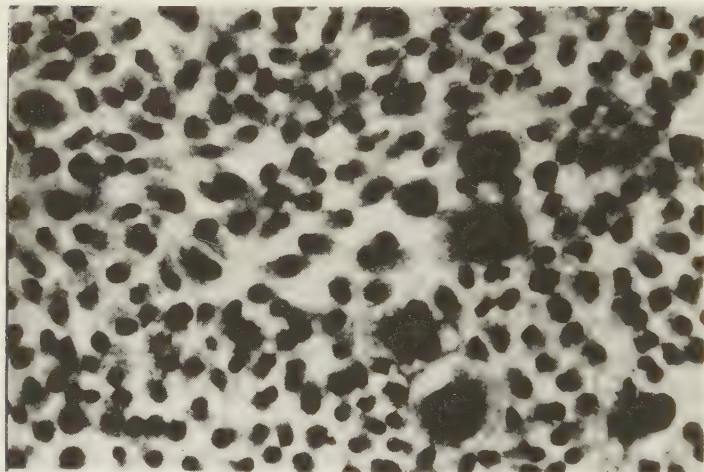
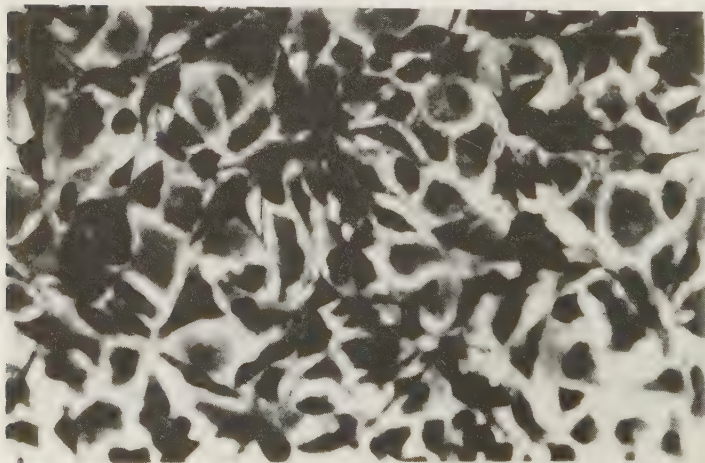


Abb. 4 : Mit ^{60}Co -bestrahlte Mc-Coy-Zellen
(200-fache Vergrößerung)



Anzahl der Zellen in der Ausgangszellsuspension errechnet werden, die dann entsprechend der gewünschten Zell-Konzentration von 1×10^5 -Zellen/ml noch weiter verdünnt werden mußte.

1.2.3. Anlegen der Deckglaskulturen

Der Zellsuspension mit 1×10^5 -Zellen/ml wurde mittels Magnet-rührer gleichmäßig verteilt, und je 1ml in ein steriles Polystyrol-Kulturröhrchen mit flachem Boden und einem Durchmesser von 15mm (Fa. Stayne Labs., London) eingefüllt.

In jedes Röhrchen war vorher mit einer sterilen Pinzette ein steriles, rundes Deckgläschen von 13mm Durchmesser (Fa. Boll, München) eingelegt worden.(+)

Die mit Zellen beschickten Röhrchen bebrüteten wir stationär bei 37°C ; nach 3 bis 4 Tagen war auf den Deckgläsern ein geschlossener Zellrasen ausgewachsen.

1.2.4. Beimpfung der Deckglaskulturen

Vor der Beimpfung mit Untersuchungsmaterial wurden die Deckglaskulturen mikroskopisch geprüft, da sich nur Kulturen mit einem einschichtigen Zellrasen zur Weiterverarbeitung eigneten. Außerdem erfolgte ein Mediumwechsel, d.h. wir entfernten das Anzuchtmedium mit einer an eine Absaugvorrichtung angeschlossene Vakuumpumpe und tauschten dieses gegen Erhaltungsmedium aus.

Jede Untersuchungsprobe wurde vor ihrer Verarbeitung 10 bis 20 Sekunden auf einem Whirlimixer geschüttelt und auf 2 Kulturröhrchen gleichmäßig verteilt.

(+) Um Verunreinigungen weitgehend auszuschließen, sollte das Einlegen der Deckgläsern sowie Aussäen der Zellen in einer Steril-Arbeitsbank vorgenommen werden.

Bei jedem Versuchsansatz führten wir entsprechende Kontrollen mit.

Wie verschiedene Autoren nachgewiesen haben, bleibt ein negativer Isolierungsversuch auch in der Passage negativ, sodaß auf eine Subkultur verzichtet werden konnte. (5,22,24)

1.2.5. Zentrifugation der Deckglaskulturen

Nach der Beimpfung der Deckglaskulturen wurden die Röhrchen 60 Minuten in einer "Minifuge" (Fa. Heraeus-Christ, Osterrode) bei 5.000 Umdrehungen/Minute (ca. 2.500 g) bei einer Temperatur von 33°C zentrifugiert.

Im Anschluß daran bebrüteten wir die Kulturen zunächst 2 Stunden bei 35°C bis 36°C im CO₂-Brutschrank (5% CO₂-Zufuhr) zur Erhaltung eines pH-Wertes von 7,0 bis 7,4; während dieser Zeit soll die Aufnahme der C. in die Zellen vollzogen sein. (33)

Da das Medium durch schleimiges Untersuchungsmaterial häufig getrübt war, mußte zur Vermeidung toxischer Wirkungen auf die Zellen, die Nährlösung entfernt und durch eine äquivalente Menge Erhaltungsmedium ersetzt werden. Die Weiterbebrütung erfolgte ebenfalls im CO₂-Brutschrank.

Um Kreuzinfektionen nach jedem Probenpaar zu vermeiden, war es notwendig, die Pipetten zu wechseln und die Absaugvorrichtung mit einer 5%-igen Zephirol -Lösung (Fa. Bayer) zu desinfizieren.

1.2.6. Färbung der Deckglaskulturen

Giemsa-Färbung

Nach 60 bis 70 Stunden Bebrütung färbten wir zunächst eine der beiden Deckglaskulturen. Hierfür wurde der Flüssigkeitsüberstand abgesaugt, der Zellrasen mit etwa 1ml Phosphatpufferlösung vom pH 6,8 kurz gewaschen, 10 Minuten mit Methanol im Brutschrank fixiert und wiederum mit Phosphatpuffer gewaschen. Die darauf folgende Färbung mit jeweils frisch

angesetzter 10%-iger Giemsa-Lösung in Phosphatpuffer erfolgte 45 Minuten bei 37°C .Abschließend mußte die Deckglaskultur noch einmal mit Pufferlösung gewaschen werden.Wasch- und Färbevorgänge geschahen noch im Kulturröhrchen.

Vor dem Einbetten erwies es sich als vorteilhaft, die Kulturen etwa 1 Stunde mit einem Fön zu trocknen, da noch feucht eingebettete Präparate die Beurteilung sehr erschwerten. Zur Entfernung der Deckglaskulturen aus den Röhrchen wurde der Röhrchen-Boden mit einer glühenden Nadel durchbohrt, die Deckgläschen in der Hand aufgefangen und mit dem schnell trocknenden Toluol-haltigen Einbettungsmittel Entellan (Fa. Merck) auf vorher gereinigten Objektträgern aufgeklebt.

Jodfärbung

Falls die mit Giemsa-Lösung gefärbte Zellkultur Einschlußkörperchen zeigte, führten wir mit der 2. Probe eine Jodfärbung durch, um die isolierten C. in die Untergruppe A oder B einordnen zu können.(5)

Die Arbeitsvorgänge entsprachen bis nach der Fixierung denjenigen der Giemsa-Färbung.Daran schloß sich folgende Färbung an:

7-minütiges Färben mit einer 5%-igen Jodlösung (5g KJ in 50ml A.dest. lösen, 5g Jodkristalle zufügen und mit 50ml absoluten Äthylalkohol auffüllen)

Jodlösung absaugen

7-minütiges Färben mit 2,5%-iger Jod-Alkohol-Lösung (2,5g J in 100ml absoluten Äthylalkohol lösen)

Lösung absaugen

Einbetten in Jod-Glycerin-Lösung (gleiche Teile 5%-iger Jodlösung und Glycerin mischen)

Vor dem Färben sollten alle Gebrauchslösungen auf 37°C angewärmt werden, um eine eventuelle Schockwirkung zu kalter Lösungen auf die Zellen zu vermeiden.

1.2.7. Mikroskopische Beurteilung der gefärbten Kulturen

Die Auswertung der mit Giemsa-Lösung gefärbten Präparate erfolgte an einem Mikroskop mit Dunkelfeld-Einstellung bei 200-facher Vergrößerung. Dabei waren bei positivem Nachweis die C.-Einschlußkörperchen als rundliche, ovale oder auch halbmondförmige, infolge Autofluoreszenz hellgelb aufleuchtende, granulierte, Gebilde in blau-grünlicher Umgebung zu sehen. (Abbildung 5)

Nach Angaben aus der Literatur (5,60) wird jede Kultur als C.-positiv bewertet, sobald ein Einschlußkörperchen mikroskopisch zu sehen ist. Bei unseren Untersuchungen konnten im Objektträger-Präparat stets mehrere C.-Einschlußkörperchen gefunden werden. Negativ war eine Untersuchungsprobe dann, wenn sich nach wenigstens 5-minütiger, meanderförmiger Durchmusterung der Deckgläschen kein Einschlußkörperchen finden ließ.

Auf eine Hellfeld-Betrachtung der mit Giemsa-Lösung gefärbten Kulturen verzichteten wir, da die Einschlußkörperchen hierbei wegen des fehlenden Farbkontrastes wesentlich schwerer aufzufinden waren. (Abbildung 6)

1.3. Untersuchungsmaterial

1.3.1. Probenentnahme

Bei unseren Proben handelte es sich durchweg um endourethrale Abstriche von männlichen Patienten. Hierfür verwendeten wir einen 12 bis 15cm langen endourethralen Abstrichtupfer (Fa. Medical Wire and Equipment Co. Ltd., England) mit einem Schaft aus Draht und einem sehr dünnen Watteköpfchen von nur 3mm Durchmesser. (15)

Der Tupfer mußte vor der Materialentnahme im Transportmedium etwas angefeuchtet werden, damit dieser 2 bis 4cm tief in die Urethra eingeführt werden konnte. (15)

Der Watteträger wurde anschließend mit einer sterilen Schere über dem Transportgefäß abgeschnitten und darin aufgefangen. (15)

Abb. 5 : Einschlufkörperchen in ^{60}Co -bestrahlten
Mc-Coy-Zellen, Giemsa-Färbung
(200-fache Vergrößerung, Dunkelfeld)

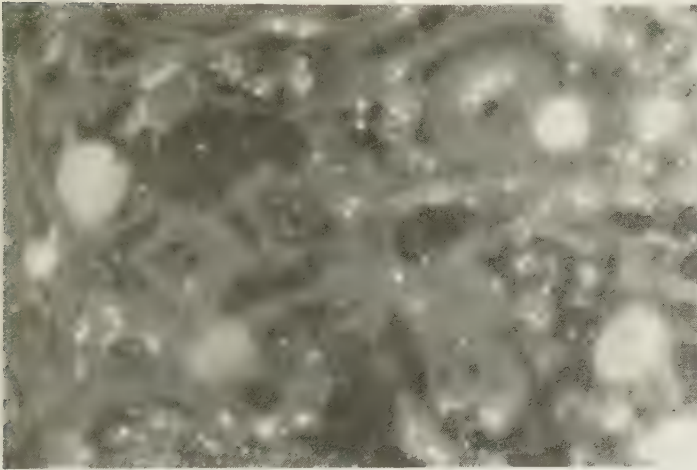
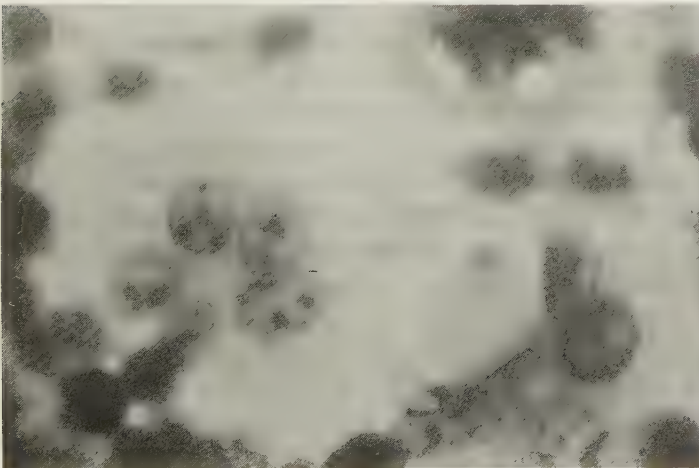


Abb. 6 : Einschlufkörperchen in ^{60}Co -bestrahlten
Mc-Coy-Zellen, Giemsa-Färbung
(320-fache Vergrößerung, Hellfeld)



1.3.2. Transportgefäße und Transportmedium

Als Transportgefäße benützten wir kleine Röhrchen (2ml Inhalt) aus Polypropylen mit gut schließendem Silikon-Schraubverschluß (Fa. Nunc, Wiesbaden), die sich zur Lagerung in flüssigem Stickstoff eigneten.

Das Transportmedium bestand aus einem Saccharose-Puffer (0,2M Saccharose in 0,02M Phosphatpuffer, pH 7,2, nach GORDON(24)), der sich gleichzeitig als günstiges Konservierungsmittel erwies. Dem Puffer waren zur Erhaltung der Lebensfähigkeit und Infektiosität der C. noch 3% FKS sowie ein Antibiotikagemisch aus 10 μ g Refobacin^R/ml, 100 μ g Streptothetat^R/ml und 25 E Moronal^R (Fa. Heyden) /ml zur Unterdrückung der im Untersuchungsmaterial vorhandenen Begleitflora zugesetzt worden.(5)

Je 1ml dieses Transportmediums wurde in die beschriebenen Gefäße abgefüllt, in denen sich sterile Glasperlen befanden. Die Glasperlen sollten der besseren Aufschließung des Untersuchungsmaterials während des Schüttelvorgangs dienen. Die vorbereiteten Röhrchen wurden den betreffenden Kliniken zur Verfügung gestellt und dort bis zum Verbrauch bei -20°C gelagert.

1.3.3. Lagerung der Untersuchungsproben

Nach der Materialentnahme erfolgte sofortiges Einfrieren der Proben in flüssigem Stickstoff.

Nach Angaben aus der Literatur ist eine längere Aufbewahrung der C. nur in flüssigem Stickstoff bei -170°C oder bei -80°C unter Erhaltung ihrer Lebensfähigkeit möglich.(7,53,59)

In etwa 14-tägigen Abständen wurden die in den Kliniken entnommenen und dort in flüssigem Stickstoff gelagerten Untersuchungsproben in unser Labor gebracht; der Transport erfolgte ebenfalls in Behältern mit flüssigem Stickstoff.

2. Versuche

2.1. Herkunft des Untersuchungsmaterials

Unsere Untersuchungen führten wir von Dezember 1976 bis Dezember 1977 an 2 ambulanten Patientenkollektiven durch; dabei handelte es sich um 293 Patientenproben aus der Urologischen Klinik der Universität München und um 92 Patientenproben aus der Dermatologischen Klinik der Universität München.

Das Krankengut der Urologischen Klinik umfaßte männliche Patienten mit chronischer, unspezifischer U. beziehungsweise P.U., während beim Patientenkollektiv der Dermatologischen Klinik eine akute, unspezifische U. vorlag.

2.2. Gang der Untersuchung

2.2.1. Allgemein

In unsere Studie waren nur solche Patienten einbezogen worden, die in den vergangenen 2 Monaten keine Antibiotika eingenommen hatten. Außerdem wurde darauf geachtet, daß die letzte Urinentleerung mindestens 2 Stunden zurücklag. (16,53,60) Nach Erstellung der Anamnese, die vor allen Dingen auf die Symptomatik von Seiten des UGT ausgerichtet war, erfolgte die Inspektion und Palpation der regio genitalis. Die anschließenden Untersuchungsgänge waren bei beiden Patientengruppen verschieden.

2.2.2. Beim Patientenkollektiv der Dermatologischen Klinik

Beim Patientenkollektiv der Dermatologischen Klinik war bei allen Probanden eine mehr oder weniger starke urethrale Sekretion vorhanden. Das mit einer Platinöse aus dem orificium externum urethrae gewonnene Untersuchungsmaterial wurde auf einem Objektträger ausgestrichen, mit Methylenblau gefärbt

und im Mikroskop die Zahl der Leukozyten pro Gesichtsfeld bei 400-facher Vergrößerung bestimmt. Mikroskopisch suchten wir außerdem nach Bakterien, Hefen, Trichomonaden, Erythrozyten und Epithelien.

Konnten im mikroskopischen Präparat keine Mikroorganismen festgestellt und lediglich 10 oder mehr Leukozyten/Gesichtsfeld gesehen werden, so diagnostizierten wir eine unspezifische U. .(7,27,35,75)

Wie bereits erwähnt (Seite 30), wurde nach Desinfektion des orificium externum urethrae ein endourethraler Abstrich entnommen.

Da es sich bei unseren Probanden aus der Dermatologischen Klinik durchweg um Patienten mit U. und vermehrter Sekretion handelte, war in jedem Fall eine Gonokokken-Infektion sowohl im Direktpräparat als auch in der Kultur auszuschließen.(35,56) (Tabelle 2)

2.2.3. Beim Patientenkollektiv der Urologischen Klinik

Beim Krankengut der Urologischen Klinik war nach Desinfektion des orificium externum urethrae generell eine Massage der Prostata durchgeführt worden. Von dem gewonnenen Exprimat legten wir ein Nativpräparat an und bestimmten wiederum im Mikroskop bei 400-facher Vergrößerung die Anzahl der Leukozyten/Gesichtsfeld. Anschließend wurde das Präparat noch auf die Anwesenheit von Bakterien, Hefen, Trichomonaden, Erythrozyten und Epithelien durchgemustert.(47) Danach erfolgte mittels des beschriebenen Harnröhrenabstrichtupfers die Entnahme des Untersuchungsmaterials aus der Urethra.

Falls kein Prostata-Exprimat zu gewinnen war, wurde nur der endourethrale Abstrich untersucht.

Unsere Studie umfaßte somit lediglich solche Patienten, bei denen im Direktpräparat nach Prostata-Massage wiederum keinerlei Mikroorganismen gefunden werden konnten und die Beschwer-

Tab. 2 : Gang der Untersuchung bei Patienten aus der
Dermatologischen Klinik

1. Anamnese
2. Inspektion und Palpation des äußeren Genitale
3. Methylenblau-Präparat vom Urethralesekret :
Zur Bestimmung von Leukozytenzahl, Bakterien,
Hefen, Trichomonaden, Erythrozyten, Epithelien.
4. Endourethraler Harnröhrenabstrich nach Desinfektion
des orificium externum urethrae (Merfen 0,06%)

Gang der Untersuchung bei Patienten aus der
Urologischen Klinik

1. Anamnese
2. Inspektion und Palpation des äußeren Genitale
3. Palpation der Prostata mit anschließender Massage
4. Desinfektion des orificium externum urethrae
(Merfen 0,06%)
5. Nativpräparat vom Exprimattropfen :
Zur Bestimmung von Leukozytenzahl, Bakterien,
Hefen, Trichomonaden, Erythrozyten, Epithelien.
6. Endourethraler Harnröhrenabstrich (auch ohne Pro-
stata-Exprimat).

den im UGT angaben. (z.B. Beschwerden im Bereich der Harnwege, anorektalen Bereich, Störungen der Sexualfunktion usw.) (Tabelle 2).

3. Ergebnisse

3.1. Ergebnisse der Untersuchungen aus der Dermatolog. Klinik

3.1.1. Allgemeiner Überblick

In unserem Patientenkollektiv aus der Dermatologischen Klinik konnten aus 100 endourethralen Abstrichen 36-mal C. nachgewiesen werden (36%); darunter befanden sich 7 Doppelbestimmungen.

Die isolierten C. gehörten zu der Untergruppe A, d.h. es handelte sich bei allen Erkrankungen um eine Infektion mit C.tr..

Tab. 3 : Endourethrale Abstriche von Patienten mit akuter, unspezifischer Urethritis

Anzahl der Proben	100	Anzahl der Patienten	93
C.-Nachweis positiv	36	C.-Nachweis positiv	35
C.-Nachweis negativ	64	C.-Nachweis negativ	58
Isolierungsrate (%)	36	Isolierungsrate (%)	37,6

3.1.2. Spezielle Ergebnisse

3.1.2.1. Beziehung zum Erkrankungsalter

Die Altersverteilung der Patienten zeigte (Tabelle 4), daß das Hauptmanifestationsalter bei unspezifischer U. in unserem Krankengut zwischen dem 20. und 30. Lebensjahr lag, bei

Patienten über 30 nahmen die Erkrankungsfälle kontinuierlich ab. Der älteste Patient war 56, der jüngste 18 Jahre alt. Das Durchschnittsalter lag bei 29 Jahren.

Tab. 4 : Altersverteilung von 93 Patienten mit unspezifischer Urethritis

Lebensalter	Anzahl der Patienten	davon C.-positiv
16 - 20	8	4
21 - 30	50	21
31 - 40	26	9
41 - 50	8	1
51 - 60	1	0

Von 35 Kranken mit positivem C.-Nachweis waren 21 (68,6%) zwischen 20 und 30 Jahre alt.

3.1.2.2. Beziehung zwischen Fluormenge und positiver Chlamydien-Isolierung

Bei 6 Patienten war zum Zeitpunkt der Untersuchung kein Fluor vorhanden.

Eine genaue Analyse der Fluormenge konnte nicht erstellt werden, da bei einigen Probanden nur geringgradiger Fluor vorhanden war; bei Erhebung der Vorgeschichte war aber von reichlich Ausfluß berichtet worden. Die angegebene Fluormenge bezieht sich daher lediglich auf die zum Zeitpunkt der Untersuchung vorhandene Fluormenge.

Wie aus Tabelle 5 ersichtlich, war zum Zeitpunkt der Untersuchung bei 13 Patienten reichlich Fluor vorhanden; davon war bei 11(84,6%) der C.-Nachweis positiv. Bei den 74 Probanden mit leichtem Fluor konnte C.tr. in 23 Fällen (31,1%) und bei den 6 Patienten ohne Fluor in einem Fall gefunden werden. Die C.-Isolierungsrate nahm also in Abhängigkeit von der Fluormenge kontinuierlich ab.

Tab. 5 : Beziehung zwischen Fluormenge und positiver Chlamydien-Isolierung

Chlamydien	kein Fluor	leichter Fluor	reichlich Fluor
	Zahl	Zahl	Zahl
positiv	1/6	23 (31,1%)	11/13
negativ	5/6	51 (68,9%)	2/13
insgesamt	6	74	13

3.1.2.3. Beziehung zwischen Fluor-Dauer und positiver Chlamydien-Isolierung

79 der 93 Männer konnten eine Angabe über die Fluor-Dauer machen.

C.tr. wurde bei Patienten mit einer Fluor-Dauer von mehr als 7 Tagen mit zunehmender Persistenz öfter nachgewiesen (Tabelle 6) als bei solchen, bei denen der Ausfluß bisher

weniger als 7 Tage bestand. Die höchste Isolierungsrate von 56% wurde bei einer Fluordauer von mehr als 4 Wochen ermittelt.

Tab. 6 : Beziehung zwischen Fluor-Dauer und positiver Chlamydienisolierung

Chlamydien	Fluor-Dauer (Tage)			
	< 7	8-14	15-28	> 28
positiv	8 (27%)	4 (44%)	6 (55%)	17 (56%)
negativ	21 (73%)	5 (56%)	5 (45%)	13 (44%)
insgesamt	29	9	11	30

3.1.2.4. Beziehung zur sonstigen klinischen Symptomatik

Bei 50% der Erkrankten (47/93) war in der Anamnese neben Ausfluß aus der Harnröhre auch über Schmerzen und/ oder Brennen beim Wasserlassen berichtet worden.

3.1.2.5. Beziehung zwischen Leukozytenzahl im Urethral-
abstrich und positiver Chlamydien-Isolierung

Bei 26 von 35 Probanden mit positivem C.-Nachweis konnten massenhaft Leukozyten im Urethralabstrich gefunden werden, während bei den verbleibenden 9 Fällen reichlich weiße Blutkörperchen nachweisbar waren. (Tabelle 7)

Tab. 7 : Beziehung zwischen Leukozytenzahl pro Gesichtsfeld und positiver Chlamydien-Isolierung

Chlamydien	Leukoz. massenhaft	Leukoz. reichlich
	Anzahl	Anzahl
positiv	26 (41,8%)	9 (26%)
negativ	28 (58,2%)	30 (74%)
insgesamt	54	39

In den Direktpräparaten wurden niemals Erythrozyten, spärlich abgeschilferte Epithelien hingegen in allen Fällen gefunden.

3.1.2.6. Beziehung zwischen früher durchgemachter Erkrankung im Urogenitaltrakt und positiver Chlamydien-Isolierung

16 männliche Patienten berichteten anamnestisch von einer unspezifischen Urethritis, der C.-Nachweis gelang aber nur einmal. Bei einer früher abgelaufenen Gonokokkeninfektion hingegen waren 31,4% - also etwa 1/3 der Fälle - C.-positiv. 2/3 der Probanden gaben an, im Laufe eines Jahres eine Gonorrhoe durchgemacht zu haben. Bei C.-negativen Patienten konnte aber nur bei 6,9% eine Gonorrhoe in der Vorgeschichte ermittelt werden (Tabelle 8).

Tab. 8 : Beziehung zwischen früherer Erkrankung im Urogenitaltrakt und positiver Chlamydien-Isolierung

Anamnese	Chlamydien positiv	Chlamydien negativ
	Zahl	Zahl
Urethritis	1 (2,8%)	15 (25,8%)
Gonorrhoe	11 (31,4%)	4 (6,9%)
keine	23 (65,8%)	39 (67,3%)
gesamt	35	58

3.2. Ergebnisse der Untersuchungen aus der Urologischen Klinik

3.2.1. Allgemeiner Überblick

Bei 293 Patienten aus der Urologischen Klinik konnte bei 44 kein Prostata-Exprimat sondern lediglich ein Harnröhrenabstrich entnommen werden. Von diesen Probanden wurden C.-Kulturen angelegt aber keine Nativpräparate angefertigt.

Bei 31 der 266 (= 310 - 44) untersuchten Harnröhrenabstriche nach Prostata-Massage fiel der C.-Nachweis positiv aus.

Von 44 Harnröhrenabstrichen waren 2 positiv; d.h. 10,6% der untersuchten Proben waren C.-positiv.

Unter 310 Patientenproben befanden sich 17 Doppelbestimmungen, wobei bei 2 Patienten zweimal ein positiver Befund ermittelt werden konnte.

Die erhaltenen Isolate waren auf Grund einer positiven Jodfärbung der Spezies C.tr. zuzuordnen.

Tab. 9 : Endourethrale Abstriche von Patienten mit chron. unspezifischer Urethritis, bzw. Prostato-Urethritis

Anzahl der Proben	310	Anzahl der Patienten	293
C.-Nachweis positiv	33	C.-Nachweis positiv	31
C.-Nachweis negativ	277	C.-Nachweis negativ	262
Isolierungsrate (%)	10,6	Isolierungsrate (%)	10,6

3.2.2. Spezielle Ergebnisse

3.2.2.1. Beziehung zum Erkrankungsalter

Bei den von uns untersuchten Probanden mit chronischer, unspezifischer U. bzw. P.U. erkrankten die meisten zwischen dem 30. und 40. Lebensjahr. (Tabelle 10). Bei diesem Patientenkollektiv wurden auch am häufigsten C. gefunden.

In den Altersstufen zwischen dem 20. bis 30. bzw. 40. bis 50. Lebensjahr waren unter einem annähernd gleichen Krankengut ca. 10% C.-Träger; zwischen dem 50. und 60. Lebensjahr waren sogar ca. 1/5 der Patienten C.-positiv.

Der älteste Patient war 78, der jüngste 18 Jahre alt, das Durchschnittsalter lag bei 38,9 Jahren.

Tab. 10 : Altersverteilung von 293 Patienten mit chron. unspez. Urethritis, bzw. Prostato-Urethritis

Lebensalter	Anzahl der Patienten	davon C.-positiv
16 - 20	5	1
21 - 30	64	6
31 - 40	117	12
41 - 50	60	6
51 - 60	24	5
61 - 70	19	0
71 - 80	4	0

3.2.2.2. Beziehung zum Vorhandensein oder Fehlen eines Fluors

Bei der Aufschlüsselung dieses Patientenkollektivs mußten andere Gesichtspunkte berücksichtigt werden, da bei 86% der Patienten kein Ausfluß nachweisbar war. Lediglich 14% der Patienten (42/293) zeigten einen leichten Fluor; 5 von 42 (11,9%) Probanden waren C.-positiv. Die männlichen Patienten ohne Fluor ergaben mit 11,7% (26/251) eine ebenso hohe Isolierungsrate.

Tab. 11 : Beziehung zwischen Fluor und positivem Chlamydien-Nachweis

Chlamydien	Patienten mit Fluor		Patienten ohne Fluor	
	Zahl		Zahl	
positiv	5	(11,9%)	26	(11,7%)
negativ	37	(88,1%)	225	(88,3%)
insgesamt	42		251	

3.2.2.3. Beziehung zur sonstigen klinischen Symptomatik

Bei dem Patientenkollektiv aus der Urologischen Klinik lag zum Zeitpunkt der Untersuchung eine sehr verschiedenartige Symptomatologie vor. Als typische Symptomatik einer unspezifischen, chronischen U., bzw. P.U. wurden Beschwerden im Bereich der Harnwege angesehen wie Pollakisurie, initiale und/ oder terminale Algurie und Dysurie. Inguinale, skrotale, retropubische oder perineale Dysaesthesien, Darmtenesmen, Druckgefühle im After oder auch Störungen der Sexualfunktion wurden in Zusammenhang mit einem unauffälligen klinischen Befund als unspezifisch und im Sinne einer negativen klinischen Symptomatik gewertet.

Die Einteilung unseres Krankengutes erfolgte daher in eine Patientengruppe mit positiver klinischer Symptomatik und in eine Patientengruppe mit negativer klinischer Symptomatik.

Von 293 untersuchten Patienten konnte nur in 21,8% der Fälle (64/293) eine typische Symptomatik von Seiten des UGT gefunden werden, während bei 78,2% dieser Personen (229/293) nur unspezifische und damit sehr schwer faßbare Beschwerden zu eruieren waren. (Tabelle 12)

Tab. 12 : Beziehung zwischen klinischer Symptomatik und Chlamydien-Nachweis

Chlamydien	Symptomatik pos.		Symptomatik neg.	
	Zahl		Zahl	
positiv	10	(15,6%)	21	(9,1%)
negativ	54	(84,4%)	208	(90,9%)
gesamt	64		229	

Von 31 Probanden mit C.-Nachweis wurden nur in 10 Fällen und von 262 Probanden ohne C.-Nachweis in 54 Fällen typische Symptome ermittelt. Bei Vorhandensein einer klinischen Symptomatik konnten nur bei ca. 15% der Patienten C. im Prostata-Exprimat oder UrethraSekret nachgewiesen werden. Der größte Teil der Erkrankungen blieb auch nach Einbeziehen der C.-Diagnostik mikrobiologisch ungeklärt.

Auffällig war, daß 146 Patienten (50%) eine Beschwerdedauer von mehr als einem Monat angaben, bei 94 Personen waren diese Beschwerden sogar schon ein Jahr und länger vorhanden.

3.2.2.4. Beziehung zwischen Leukozytenzahl im Prostata-Exprimat und positiver klin. Symptomatik

Zwischen positiver klinischer Symptomatik und der Anzahl weißer Blutkörperchen im Prostata-Exprimat konnten bei 400-facher Vergrößerung bei 71,8% der Patienten Leukozytenzahlen von mehr als 20 bis 30 pro Gesichtsfeld festgestellt werden. (Tabelle 13)

Tab. 13 : Beziehung zwischen Leukozytenzahl und positiver klinischer Symptomatik

Leukozyten/Gesichtsfeld	Zahl	
> 20 - 30	45	(71,8%)
spärlich oder negativ	19	(28,2%)
Gesamtzahl der Patienten	64	

3.2.2.5. Beziehung zwischen Leukozytenzahl im Prostata-

Exprimat und Chlamydien-Isolierung

Bei 28,5% der Probanden mit erhöhten Leukozytenzahlen konnten im Exprimat zwar C. isoliert werden, aber auch bei wenigen oder gar fehlenden Leukozyten pro Gesichtsfeld waren in 9,3% dieser Prostata-Exprimat C. nachweisbar. (Tabelle 14)

Tab. 14 : Beziehung zwischen Leukozyten im Prostata-
Exprimat und Chlamydien-Nachweis

Chlamydien	Leukozyten > 20 - 30	Leukozyten spärlich oder negativ
	Zahl	Zahl
positiv	10 (28,5%)	19 (9,3%)
negativ	35 (71,5%)	185 (90,7%)
insgesamt	45	204

34,5% der Patienten mit positivem C.-Nachweis hatten im Direktpräparat nach Prostatamassage wiederum mehr als 20 bis 30 Leukozyten pro Gesichtsfeld. (Tabelle 15)

Tab. 15 : Beziehung zwischen Leukozytenzahl und Chlamydien-Isolierung bei männlichen Patienten

Leukozyten/Gesichtsfeld	Zahl	
>20 - 30	10	(34,5%)
spärlich oder keine	19	(65,5%)
insgesamt	29	

In den Ausstrichpräparaten waren vereinzelt Erythrozyten, Epithelien, Plasmazellen oder auch Prostatasteine nachweisbar. Diese Befunde wurden nicht berücksichtigt.

3.2.2.6. Beziehung zwischen früher durchgemachter Erkrankung im Urogenitaltrakt und Chlamydien-Isolierung

In der Anamnese konnte von 293 untersuchten Patienten bei nur 2 Probanden mit und bei 30 Probanden ohne C.-Nachweis eine früher durchgemachte Gonokokkeninfektion ermittelt werden. Diese Erkrankung lag in 29 Fällen länger als ein Jahr zurück.

Von 15 Patienten wurde anamnestisch außerdem eine früher abgelaufene, entzündliche Erkrankung im Bereich des UGT angegeben, z.B. Prostatitis, Epididymitis oder Urethritis; davon war jedoch bei keinem die C.-Kultur positiv.

V. Besprechung der Ergebnisse

Die in unserer Studie ermittelte C.-Isolierungsrate von 36% der männlichen Patienten mit akuter, unspezifischer U. aus der Dermatologischen Klinik entspricht den aus England und den Vereinigten Staaten berichteten Ergebnissen. (1,16,35,53, 55,56,60,69) (Tabelle 16)

Im Gegensatz zur Isolierungsrate von 36% aus der Dermatologischen Klinik steht die Isolierungsrate von nur 10,6% der männlichen Patienten mit chronischer, unspezifischer U. bzw. P.U. aus der Urologischen Klinik.

Der wesentlichste Unterschied zwischen den beiden Patientenkollektiven zum Zeitpunkt der Untersuchung bestand darin, daß bei den Patienten aus der Dermatologischen Klinik ein Fluor in ca. 94% der Fälle, und eine Erhöhung der Leukozytenzahl im Direktpräparat vom Urethralsekret in allen Fällen nachweisbar war. Beim Krankengut der Urologischen Klinik hingegen konnte ein Fluor lediglich in 14%, und eine Erhöhung der Leukozytenwerte im Prostata-Exprimat in 15% der untersuchten Fälle gefunden werden.

Bei den Patienten aus der Dermatologischen Klinik, die reichlich Ausfluß aus der Urethra aufwiesen, konnte sogar eine C.-Isolierungsrate von 84,6% erzielt werden. Gleichzeitig war bei jenen Kranken eine Beziehung zur Fluor-Dauer herzustellen. Nach 8-tägigem Ausfluß erhöhte sich die C.-Isolierungsrate auf 44% und nach 2 bis 4-wöchigem Ausfluß sogar auf 55% der untersuchten Proben; bei einer Fluor-Dauer von länger als 4 Wochen war aber keine Steigerung des Isolierungsergebnisses mehr zu erreichen.

Anhand unseres Krankengutes ergab sich also, daß bei männlichen Patienten mit akuter, unspezifischer U. die C.-Isolierungsrate mit zunehmender Fluor-Stärke-und-Dauer ansteigt. Dabei können

Tab. 16 : Isolierungsraten von Chlamydien bei männlichen
Patienten mit unspezifischer Urethritis

Autoren	Jahr	Patientenzahl	% - Angabe
Gordon, Quan	1971	84	23
Dunlop et al.	1972	99	44
Oriel et al.	1972	98	36
Richmond et al.	1972	103	39
Schachter et al.	1975	42	57
Holmes et al.	1975	113	42
Oriel, Reeve	1976	118	25
Alani, Darougar	1977	509	26
Perroud et al.	1978	238	52

sich möglicherweise länger bestehender U. mehr infektiöse, extrazelluläre Partikel im Laufe des Vermehrungszyklus bilden als bei kürzerer Dauer. Diese Feststellung steht in Übereinstimmung mit den von SCHACHTER et al. (69), ALANI et al. (1) und PERROUD (56) gemachten Beobachtungen.

Bei unserem Patientenkollektiv mit chronischer, unspezifischer U. bzw. P.U. aus der Urologischen Klinik war, wie bereits erwähnt, nur in 14% der Fälle Fluor vorhanden. C.-positive Befunde wurden jedoch bei Probanden mit Fluor (11,9%) etwa genauso oft gefunden wie bei solchen ohne Fluor (11,7%). Der Fluor stellt somit lediglich ein Leitsymptom einer bestehenden Infektion mit C.tr. dar

Nach Einbeziehung der Patienten mit anderen Symptomen im Bereich des UGT beim Krankengut der Urologischen Klinik wiesen dennoch nur 28,2% der untersuchten Fälle eine typische Symptomatik auf. Die C.-Isolierungsrate erhöhte sich nach Einbeziehung dieser Probanden von 11,9% auf 15,6%, lag also trotzdem um ca. 20% niedriger als bei den Patienten der Dermatologischen Klinik. (36%)

Auffällig war, daß bei 78,2% der Kranken aus der Urologischen Klinik, die keine Symptome zeigten, noch bei 9,1% der Fälle C. nachgewiesen werden konnten. Die C. unterhalten bei diesen Patienten möglicherweise eine zum Zeitpunkt der Untersuchung latente Infektion-eine asymptomatische U.-, die unter dem Einfluß bestimmter Faktoren reaktiviert werden kann. (60) Es ist denkbar, daß die C. in diesem Latenzstadium als intrazelluläre Partikel gelagert sind und gegebenenfalls in ihre extrazelluläre, infektiöse Form übergehen können. Eventuell könnte man die C. aber auch als Kommensalen oder Opportunisten in der Urethra bzw. Prostata betrachten und sie wären deshalb als fakultative Entzündungserreger im männlichen UGT anzusehen. (27)

Ohne die Symptomatik einer im Moment akuten U.-vor allen Dingen ohne Fluor-Nachweis- sind C. weit weniger oft zu isolieren als in den Fällen mit entsprechender Symptomatologie. (16,35, 55,56)

Mit den Symptomen einer floriden U. bzw. P.U. stehen die hierbei ermittelten Leukozytenwerte in Übereinstimmung. Alle Patienten der Dermatologischen Klinik hatten reichlich bis massenhaft Leukozyten im Nativpräparat; im Krankengut der Urologischen Klinik konnten C. immerhin bei 28,5% der Patienten mit vermehrt Leukozyten im Prostatasekret isoliert werden.

Bei Selektion der Probanden aus beiden Kliniken mit stark erhöhten Leukozytenzahlen/Gesichtsfeld im Direktpräparat vom Urethralsekret bzw. Prostata-Exprimat ergab sich sogar eine Annäherung der C.-positiven Befunde von Dermatologischer Klinik : Urologischer Klinik = 74,6% : 71,8% .

Beim Patientenkollektiv der Urologischen Klinik konnten C. bei erhöhten Leukozytenwerten im Ausstrichpräparat vom Prostata-Exprimat auch ohne klinische Symptomatik öfter nachgewiesen werden als bei niedrigen oder negativen Leukozytenzahlen (15,6% gegenüber 9,3%). Die entzündliche Reaktion läuft in diesen Fällen vielleicht in tieferen Abschnitten des UGT ab, wie z.B. der Prostata, ohne faßbare Beschwerden zu verursachen. Die von uns gefundene Korrelation zwischen erhöhten Leukozytenzahlen im Urethralsekret bzw. Prostata-Exprimat gibt somit einen Hinweis auf die ätiologische Rolle der C. bei unspezifischer U. bzw. P.U. .

Die C.-Isolierungsrate von 9,3% beim Krankengut der Urologischen Klinik mit niedrigen oder negativen Leukozytenzahlen im Prostata-Exprimat entsprach in etwa dem Prozentsatz der positiven C.-Befunde bei Patienten ohne klinische Symptomatik. (9,1%) Über ähnliche Ergebnisse wurde auch von anderen Autoren berichtet. (1,63,69,79)

Der relativ große Anteil der Probanden ohne Symptomatik (78,2%) und wenigen oder fehlenden Leukozyten im Nativpräparat (80,5%) läßt sich unter der Bezeichnung "Vegetatives Urogenitalsyndrom" zusammenfassen. Dieser Symptomenkomplex beinhaltet zahlreiche funktionelle und vegetative Störungen im Beckenbereich. Doch

darf nicht vergessen werden, daß sich zuweilen hinter einem "Vegetativen Urogenitalsyndrom" eine psychosomatische Erkrankung, eine Neurose oder gar Depression verbirgt.(70)

Bei den Patienten der Dermatologischen Klinik war auffällig, daß eine Beziehung zu einer früheren Gonokokken-Infektion hergestellt werden konnte. Knapp 1/3 der C.-positiven Probanden hatten im letzten halben Jahr eine Gonorrhoe durchgemacht. Für diese postgonorrhoeische U. stellt sich die Frage, ob die C. für die unspezifische U. verantwortlich zu machen sind oder ob sie lediglich mit ihr assoziiert sind ohne sie kausal zu verursachen; vorstellbar wäre auch, daß die C. erst durch die Gonokokken aktiviert werden.(54,60)

Knapp 1/4 der Patienten dieser Klinik gaben anamnestisch außerdem eine U. an. Hier waren die Verhältnisse umgekehrt. Bei Probanden, die bereits früher eine U. durchgemacht hatten, wurden nur bei 2,8% C. isoliert. Bei Primärinfektionen dagegen liegen die Isolierungsraten wesentlich höher. Dies konnte auch bei Infektionsversuchen an Freiwilligen mit genitalen Trachomstämmen gezeigt werden.(1)

Für das Krankengut der Urologischen Klinik ließen sich hinsichtlich früherer Erkrankungen im UGT keine Interpretationen anstellen.

Bezüglich der Altersverteilung der Patienten aus beiden Kliniken war festzustellen, daß der Großteil der U. bzw. P.U. in dem Zeitraum der größten sexuellen Aktivität (20 bis 40 Lebensjahr) auftrat; in diesen Altersstufen fanden sich auch die meisten positiven C.-Befunde.

Ein großer Teil der unspezifischen U. bzw. P.U. blieb somit sowohl nach Einbeziehung des Mykoplasmen- als auch des C.-Nachweises in die Diagnostik ungeklärt. Möglicherweise sind durch Verbesserungen der Isolierungstechniken höhere Isolierungsraten zu erzielen; sicherlich aber werden noch andere, im Moment unbekannte Mikroorganismen, wie z.B. bestimmte Viren oder auch exogene bzw. endogene Faktoren, die für diese Krankheitsbilder kausal verantwortlich zu machen sind, in der Zukunft gefunden.

VI. Zusammenfassung

Wir versuchten in unserer Studie die ätiologische Rolle der Chlamydien bei 93 Patienten mit akuter, unspezifischer Urethritis aus der Dermatologischen Klinik und bei 293 Patienten mit chronischer, unspezifischer Urethritis bzw. Prostatourethritis aus der Urologischen Klinik der Universität München abzuklären.

Das hierbei erzielte Chlamydien-Isolierungsergebnis bei 36% der Kranken mit akuter, unspezifischer Urethritis aus der Dermatologischen Klinik spricht für eine Beteiligung der Chlamydien an diesem Krankheitsbild.

Die relativ niedrige Isolierungsrate von 10,6% bei den Probanden der Urologischen Klinik mit chronischer, unspezifischer Urethritis bzw. Prostatourethritis beruht auf dem hohen Anteil asymptomatischer Fälle (78,2%) bzw. der Fälle ohne entzündliche Reaktion (80,5%), deren Parameter die Anzahl der Leukozyten pro Gesichtsfeld im Nativpräparat vom Prostata-Exprimat darstellt.

Bei Zugrundelegung eines diesbezüglichen Selektionsverfahrens würde auch hier das Chlamydien-Isolierungsergebnis höher liegen. (15,6% Chlamydien-positive Befunde bei Patienten mit klinischer Symptomatik bzw. 28,5% Chlamydien-positive Befunde bei Patienten mit erhöhten Leukozytenwerten im Prostata-Exprimat gegenüber einer Gesamt-Isolierungsrate von 10,6%)

Die positiven Chlamydien-Nachweise bei Probanden ohne klinische Symptomatik (9,1%) bzw. ohne Leukozytenerhöhung im Prostata-Exprimat (9,3%) sprechen dafür, daß Chlamydien eine chronische Urethritis oder auch Prostatourethritis unterhalten können, die unter bestimmten Bedingungen reaktiviert werden.

Chlamydien wurden außerdem beim Krankengut mit akuter, unspezifischer Urethritis und Gonorrhoe-Anamnese öfter nachgewiesen (31,4%) als bei solchen mit einer Urethritis-Anamnese. (2,8%) In beiden Patientenkollektiven waren die meisten Erkrankungen zwischen dem 20. und 40. Lebensjahr aufgetreten.

VII. Literaturverzeichnis

1. ALANI, M.D., DAROUGAR, S., Mac.D.BURNS, D.C.:
Isolation of Chlamydia trachomatis from the male urethra.
Brit.J.vener.Dis. 53 (1977) 88
2. ANONYM : Chlamydia and genital infection.
Lancet 3 (1974) 264
3. CHO-CHOU-KUO, CALDWELL, H.D., SAN-PIN-WANG: Antigens
of Chlamydia trachomatis. In HOBSON, D. (ed.) Nongono-
coccal urethritis and related infections. Am.soc. for
microb. Washington D.C.(1977)p. 176
4. CHO-CHOU-KUO, SAN-PIN-WANG, WENTWORTH, B.B.: Primary
isolation of TRIC-Organisms in Hela 229-cells treated
with DEAE-Dextran.
J.Infect.Dis. 125 (1972) 665
5. DAROUGAR, S.: The technique employed for the isolation
of Chlamydia by the Virus Laboratory of the Institute
of Ophthalmology, London.
Persönliche Mitteilung (1976) London
6. DAROUGAR, S., CUBITT, S., JONES, B.R.: Effect of high-
speed centrifugation on the sensitivity of irradiated
Mc-Coy-cell culture for the isolation of Chlamydia.
Brit.J.vener.Dis. 50 (1974) 308
7. DAROUGAR, S., JONES, B.R., KINNISON, J.R.: Advances in
the diagnostic isolation of Chlamydia.
Brit.J.vener.Dis. 48 (1972) 416

8. DAROUGAR, S., WOODLAND, R.M., FORSEY, T.: Isolation of Chlamydia from ocular infections. In HOBSON, D. (ed.) Nongonococcal urethritis and related infections. Am.soc. for microb. Washington D.C.(1977) 295
9. DIGIACOMO, R.F., GALE, J.L., SAN-PIN-WANG: Chlamydial infection of the male baboon urethra. Brit.J.vener.Dis. 51 (1975) 310
10. DUNLOP, E.M.C.: Treatment of patients suffering from chlamydial infections. J.Antimicrob.Chemother. 3 (1977) 377
11. DUNLOP, E.M.C., FREEDMAN, A., GARLAND, J.A.: Infection by Bedsoniae and the possibility of spurious isolation. Amer.J.Ophthal. 63 (1967) 1073
12. DUNLOP, E.M.C., HARE, M.J., DAROUGAR, S.: Detection of Chlamydia in certain infections of man. J.Infect.Dis. 120 (1969) 463
13. DUNLOP, E.M.C., HARPER, I.A., AL HUSSAINI, M.K.: Relation of TRIC-Agent to nonspecific genital infection. Brit.J.vener.Dis. 42 (1966) 77
14. DUNLOP, E.M.C., JONES, B.R., AL HUSSAINI, M.K.: Genital infections in association with TRIC-Virus infection of the eye. Brit.J.vener.Dis. 40 (1964) 33
15. DUNLOP, E.M.C., VAUGHAN-JACKSON, J.D., DAROUGAR, S.: Improved methods of collection of material for culture from the urogenital tract. Brit.J.vener.Dis. 48 (1972) 421

16. DUNLOP, E.M.C., VAUGHAN-JACKSON, J.D., DAROUGAR, S.:
Incidence in non-specific urethritis.
Brit.J.vener.Dis. 48 (1972) 425
17. DWYER, R.S., TREHARNE, J.D., JONES, B.R.: Results of
micro-immunfluorescence tests for the detection of
type-specific antibody in certain chlamydial infections.
Brit.J.vener.Dis. 48 (1972) 452
18. FAIR, W.R.: Epididymitis and prostatitis. In HOBSON,
D. (ed.) Nongonococcal urethritis and related infections.
Am.soc. for microb. Washington D.C.(1977)p. 55
19. FORD, D.K., Mc CANDLISH, L.: Isolation of human genital
TRIC-Agens in nongonococcal urethritis.
Brit.J.vener.Dis. 47 (1971) 196
20. GORDON, F.B.: Die Chlamydien. In "Die Infektionskrank-
heiten des Menschen und ihre Erreger", Band II
Georg Thieme Verlag Stuttgart (1969)S. 1293
21. GORDON, F.B., DRESSLER, H.R., QUAN, A.L.: Effect of
ionizing irradiation on susceptibility of Mc-Coy-cell
cultures to Chlamydia trachomatis.
Appl.Microbiol. 23 (1972) 123
22. GORDON, F.B., HARPER, I.A., QUAN, A.L.: Detection of
Chlamydia in certain infections of man.
J.Infect.Dis. 120 (1969) 451
23. GORDON, F.B., MAGRUDER, G.B., QUAN, A.L.: Cell cul-
tures for detection of Trachoma Virus from experimen-
tal simian infections.
Proc.Soc.Exp.Biol.and Med. 112 (1963) 236

24. GORDON, F.B., QUAN, A.L.: Isolation of the Trachoma Agent in cell culture.
Proc.Soc.Exp.Biol.and Med. 118 (1965) 354
25. GORDON, F.B., QUAN, A.L.: Occurence of glykogen in inclusions of Psittacosis-Lymphogranuloma venereum agents.
J.Infect.Dis. 115 (1965) 186
26. GRAYSTON, J.Th., SAN-PIN-WANG: New knowledge of Chlamydiae and the diseases they cause.
J.Infect.Dis. 132 (1975) 87
27. GRIMBLE, A.S., AMARASURIYA, K.L.: Non-specific urethritis and the tetracyclines.
Brit.J.vener.Dis. 51 (1975) 198
28. HALBERSTAEDTER, L., von PROWAZEK, S.: Über Zelleinschlüsse parasitärer Natur beim Trachom.
Dtsch.med.Wschr. 33 (1907) 1285
29. HALBERSTAEDTER, L., von PROWAZEK, S.: Über Chlamydozoenbefunde bei Blenorrhoea neonatorum nongonorrhoeica.
Berlin.Klin.Wschr. 41 (1909) 1839
30. HANNA, L.: Microscopic demonstration of chlamydial inclusions by Giemsa, Jodine or Immunfluorescence stain.
In HOBSON, D. (ed.) Nongonococcal urethritis and related infections.
Am.soc. for microb. Washington D.C. (1977)p. 266
31. HARPER, I.A.: TRIC-Agent, characteristics and detection by laboratory methods.
Brit.J.vener.Dis. 42 (1966) 71

32. HILTON, A.L., RICHMOND, S.J., MILNE, J.D.: Chlamydia in the female genital tract.
Brit.J.vener.Dis. 50 (1974) 1
33. HOBSON, D.: Tissue culture procedures for the isolation of Chlamydia trachomatis from patients with nongonococcal genital infections. In HOBSON, D. (ed.)
Am.soc. for microb. Washington D.C.(1977)p. 286
34. HOBSON, D., JOHNSON, F.W.A., REES,E.: Simplified method for diagnosis of genital and ocular infections with Chlamydia.
Lancet 7 (1974) 555
35. HOLMES, K.K., HANDSFIELD, H.H., SAN-PIN-WANG: Etiology of nongonococcal urethritis.
New Engl.J.Med. 292 (1975) 1199
36. JAWETZ, E.: Agents of Trachoma and Inclusion-Conjunctivitis.
Ann.Rev.Microbiol. 18 (1964) 301
37. JOHNSON, F.W.A.: A comparison of staining techniques for demonstrating group A Chlamydia in tissue culture.
J.Med.Lab.Technol. 32 (1975) 233
38. JOHNSON, F.W.A., HOBSON, D.: The effect of penicillin on genital strains of Chlamydia trachomatis in tissue culture.
J.Antimicrob.Chemother. 3 (1977) 49
39. JONES, B.R.: Ocular syndromes of TRIC-Virus-infection and their possible genital significance.
Brit.J.vener.Dis. 40 (1964) 3

40. JONES, B. R., AL HUSSAINI, M.K.: Genital infection in association with TRIC-Virus-infection of the eye.
Brit.J.vener.Dis. 40 (1964) 19
41. JONES, B.R.: Advances and prospects in the study of certain diseases due to infections by subgroup A Chlamydia.
Brit.J.vener.Dis. 48 (1972) 13
42. KAUFMANN, R.E., WIESNER, P.J.: Nonspecific urethritis.
New Engl.J.Med. 28 (1974) 1175
43. LINDNER, K.: Zur Ätiologie der gonokokkenfreien Urethritis.
Wien.Klin.Wschr. 33 (1910) 283
44. LINDNER, K.: Übertragungsversuche von gonokokkenfreier Blenorrhoea neonatorum auf Affen.
Wien.Klin.Wschr. 22 (1909) 1555
45. MADELEY, C.R.: Guide to the collection and transport of virological specimen (including chlamydial and rickettsial specimen).
World Health Organization Geneva (1977)p. 40
46. MANIRE, G.P.: Biological characteristics of Chlamydiae.
In HOBSON, D. (ed.) Am.soc. for microb. Washington D.C. (1977)p. 167
47. MARX, F.J., HOFSTETTER, A.: Mykoplasmen-Prostato-Urethritis.
Münch.med.Wschr. 117 (1975) 1023
48. MOHYI-ELDIN-SAID: Trachom.In "Infektionskrankheiten" Band I/II, Herausgeber GSELL-MOHR
Springer Verlag Berlin-Heidelberg-New York (1967)

49. MORRISSEAU, P.M., PHILIPS, C.A., LEADBETTER, G.W.:
Viral prostatitis.
J.Urol. 103 (1970) 767
50. MOULDER, J.W.: The relation of the Psittacosis-group
to bacteria and viruses.
Ann.Rev.Microbiol. 20 (1966) 107
51. MOULDER, J.W.: Die Chlamydien.In "Die Infektions-
krankheiten des Menschen und ihre Erreger", Band I
Georg Thieme Verlag Stuttgart (1969)S. 298
52. ORIEL, J.D.: Treatment of nongonococcal urethritis.
In HOBSON, D. (ed.) Nongonococcal urethritis and re-
lated infections.Am.soc. for microb. Washington D.C.
(1977)p. 38
53. ORIEL, J.D., REEVE, P., POWIS, P.: Isolation of Chla-
mydia from patients with nonspecific genital infection.
Brit.J.vener.Dis. 48 (1972) 429
54. ORIEL, J.D., REEVE, P., THOMAS, B.J.: Infection with
Chlamydia group A in men with urethritis due to
Neisseria gonorrhoea.
J.Infect.Dis. 131 (1975) 376
55. ORIEL, J.D., REEVE, P., WRIGHT, J.T.: Chlamydial
infection of the male urethra.
Brit.J.vener.Dis. 52 (1976) 46
56. PERROUD, H.M., MIEDZYPBRODZKA, K.: Chlamydial infection
in the urethra in men.
Brit.J.vener.Dis. 54 (1978) 45

57. REEVE, P., OWEN, J., ORIEL, J.D.: Laboratory procedures for the isolation of *Chlamydia trachomatis* from the human genital tract.
J.Clin.Path. 28 (1975) 910
58. REES, E., TAIT, A., HOBSON, D.: *Chlamydia* in relation to cervical infection and pelvic inflammatory disease. In HOBSON, D. (ed.) *Nongonococcal urethritis and related infections*. Am. soc. for microb. Washington D.C. (1977)p. 67
59. RICHMOND, S.J.: The isolation of *Chlamydia* subgroup A in irradiated Mc-Coy-cells.
J.Med.Lab.Technol. 31 (1974) 7
60. RICHMOND, S.J., HILTON, A.L., CLARKE, S.K.: Role of *Chlamydia* subgroup A in nongonococcal and postgonococcal urethritis.
Brit.J.vener.Dis. 48 (1972) 437
61. RINGELMANN, R., BREDT, W.: Wandel des Erregerspektrums bei Harnwegsinfektionen.
Internist 19 (1978) 175
62. RIPA, K.T., MARDH, P.A.: New simplified culture-technique for *Chlamydia trachomatis*. In HOBSON, D. (ed.) *Nongonococcal urethritis and related infections*. Am. soc. for microb. Washington D.C. (1977)p. 323
63. RODIN, P.: Asymptomatic nonspecific urethritis.
Brit.J.vener.Dis. 47 (1971) 452
64. ROTA, T.R.: Trachoma Agent under varying cell-culture conditions. In HOBSON, D. (ed.) *Nongonococcal urethritis and related infections*. Am. soc. for microb. Washington D.C. (1977)p. 314

65. ROTA, T.R., NICHOLS, R.L.: Infection of cell-cultures by Trachoma Agent: Enhancement by DEAE-Dextran. J.Infect.Dis. 124 (1971) 419
66. SAN-PIN-WANG, GRAYSTON, J.T., CHO-CHOU-KUO: Sero-diagnosis of Chlamydia trachomatis infection with the micro-immunfluorescence test. In HOBSON, D. (ed.) Nongonococcal urethritis and related infections. Am. soc. for microb. Washington D.C. (1977)p. 237
67. SCHACHTER, J., CAUSSE, G., TARIZZO, M.L.: Chlamydiae as agents of sexually transmitted diseases. Bull.World Health Organ. 54 (1976) 245
68. SCHACHTER, J., DAWSON, C.R., BALAS, S.: Evaluation of laboratory methods for detecting acute TRIC-Agent infection. Am.J.Ophthalmol. 70 (1970) 375
69. SCHACHTER, J., HANNA, L., HILL, E.C.: Are chlamydial infections the most prevalent venereal disease? J.Am.Med.Assoc. 231 (1975) 1252
70. SCHNIERSTEIN, J., NIEDERZOLL, M.: Krankheitsbild Prostatitis. Deutsches Ärzteblatt 48 (1976) 3105
71. SMITH, T.F., WEED, L.A., SEGURA, J.W.: Isolation of Chlamydia from patients with urethritis. Mayo Clin.Proc. 50 (1975) 105
72. SOMPOLINSKY, D., RICHMOND, S.J.: Growth of Chlamydia trachomatis in Mc-Coy-cells treated with Cytochalasin B. Appl.Microbiol. 28 (1974) 912

73. STORZ, J., PAGE, L.A.: The Shorter Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. HOLT, J.G. (ed.) p. 318
The Williams & Wilkins Company Baltimore 1977
74. STORZ, J., PAGE, L.A.: Taxonomy of the Chlamydiae.
Inter.J. Systematic Bacteriol. 21 (1971) 332
75. SWARTZ, S.L.: Diagnosis of nongonococcal urethritis.
In HOBSON, D. (ed.) Nongonococcal urethritis and related infections. Am. soc. for microb. Washington D.C. (1977) p. 15
76. TÂNG, F., CHANG, H., HUANG, J.: Studies on the etiology of Trachoma with special reference to isolation of the virus in chick-embryo.
Chin. Med. J. 75 (1957) 429
77. THYGESON, P., HANNA, L.: TRIC-Agents. In LENNETTE, E. (ed.) Diagnostic procedures for viral and rickettsial infections. New York (1969) p. 904
78. TREHARNE, J.D., DAY, J., YEO, C.K.: Susceptibility of Chlamydiae to chemotherapeutic agents. In HOBSON, D. (ed.) Nongonococcal urethritis and related infections. Am. soc. for microb. Washington D.C. (1977) p. 214
79. VOLK, J., KRAUS, S.: Nongonococcal urethritis.
Arch. Intern. Med. 134 (1974) 511
80. WEISS, E., DRESSLER, H.R.: Centrifugation of Viruses and Rickettsiae onto cells and its effect on infection.
Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. 103 (1960) 691

81. WENTWORTH, B.B.: Sensitivity of cell-culture for isolation of *Chlamydia trachomatis* from genital sources. In HOBSON, D. (ed.) *Nongonococcal urethritis and related infections*. Am.soc. for microb. Washington D.C. (1977)p. 299
82. WENTWORTH, B.B.: Use of Gentamycin in the isolation of subgroup A *Chlamydia*. *Antimicrob.Agents and Chemother.* 3 (1973) 698
83. WENTWORTH, B.B., ALEXANDER, E.R.: Isolation of *Chlamydia trachomatis* by use of 5-Jodo-2-Deoxyuridine-treated cells. *Appl.Microbiol.* 27 (1974) 912
84. WIESMANN, E.: *Chlamydia*. In "Medizinische Mikrobiologie" Georg Thieme Verlag Stuttgart (1971)S. 155
85. WIESNER, P.J.: Selected aspects of the epidemiology of nongonococcal urethritis. In HOBSON, D. (ed.) *Nongonococcal urethritis and related infections*. Am.soc. for microb. Washington D.C. (1977)p. 9
86. WILLCOX, R.R.: "Triple Tetracycline" in the treatment of nongonococcal urethritis in males. *Brit.J.vener.Dis.* 48 (1972) 137

Herrn Prof.Dr. Metz möchte ich für die Überlassung des Themas und die große Hilfsbereitschaft bei der Fertigstellung meiner Arbeit sehr herzlich danken.

Mein Dank gilt an dieser Stelle aber auch den Mitarbeitern der Urologischen, Dermatologischen und Radiologischen Klinik der Universität München für ihre freundliche Unterstützung.

Lebenslauf

Am 1. September 1943 wurde ich, Gislint Hellein, als Tochter des Diplom-Ingenieurs Michael Madinger und seiner Ehefrau Agnes, geb. Ablasser, in Salzburg geboren.

Nach dem Besuch der Volksschule in Tirschenreuth trat ich 1953 in das Realgymnasium Marktredwitz ein. Nach der Übersiedelung meiner Eltern nach Kronach wechselte ich 1955 in das dortige mathematisch-naturwissenschaftliche Gymnasium über, an dem ich im Sommer 1962 die Reifeprüfung ablegte.

Im Wintersemester 1962/63 begann ich an der Universität München das Studium der Medizin, das ich im Juni 1969 mit dem Staatsexamen abschloß. Nach Ableistung der Medizinalassistentenzeit im Kreiskrankenhaus Kronach erhielt ich die Bestallung als Arzt am 12. August 1970.

Seit 1. Dezember 1970 bin ich an der Virologischen Abteilung des Landesuntersuchungsamtes für das Gesundheitswesen Südbayern, Fachbereich Medizin, tätig. Am 1. Dezember 1975 wurde ich zur Medizinalrätin ernannt.

Seit 1970 bin ich mit dem Diplom-Chemiker Dr. rer. nat. Wilhelm Hellein verheiratet.

